

PCT/I B04103432

Helsinki 25.10.2004

I B04103432

E T U O I K E U S T O D I S T U S
P R I O R I T Y D O C U M E N T



Hakija
Applicant

Bio-Nobile Oy
Masku

REC'D 03 DEC 2004

WIPO PCT

Patentihakemus nro
Patent application no

20040159

Tekemispäivä
Filing date

02.02.2004

Etuoikeushak. no
Priority from appl.

FI 20031535

Tekemispäivä
Filing date

20.10.2003

Kansainvälinen luokka
International class

B03C

Keksinnön nimitys
Title of invention

"Magneettinen siirtomenetelmä, mikropartikkeliensiirtolaite, ja reaktioyksikkö"

Täten todistetaan, että oheiset asiakirjat ovat tarkkoja jäljennöksiä Patentti- ja rekisterihallitukselle alkuaan annetuista selityksestä ja piirustuksista.

This is to certify that the annexed documents are true copies of the description and drawings originally filed with the Finnish Patent Office.

Pirjo Kaila

Tutkimussihteeri

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY

Maksu 50 €
Fee 50 EUR

Maksu perustuu kauppa- ja teollisuusministeriön antamaan asetukseen 1027/2001 Patentti- ja rekisterihallituksen maksullisista suoritteista muutoksineen.

The fee is based on the Decree with amendments of the Ministry of Trade and Industry No. 1027/2001 concerning the chargeable services of the National Board of Patents and Registration of Finland.

Osoite: Arkadiankatu 6 A Puhelin: 09 6939 500 Telefax: 09 6939 5328
P.O.Box 1160 Telephone: + 358 9 6939 500 Telefax: + 358 9 6939 5328
FIN-00101 Helsinki, FINLAND

1
L1

MAGNEETTINEN SIIRTOMENETELMÄ, MIKROPARTIKKELIEN SIIRTOLAITE, JA
 REAKTIOYKSIKKÖ - MAGNETIC TRANSFER METHOD, A DEVICE FOR
 TRANSFERRING MICROPARTICLES AND A REACTOR UNIT

5 KEKSINNÖN KOHDE

Keksinnön kohteena on magneettinen siirtomenetelmä.

KEKSINNÖN TAUSTA

10 Magneettisella siirtomenetelmällä tarkoitetaan kaikkea magnetismin avulla hiukkasten (engl. particles) liikkeisiin liittyvää toimintaa, kuten esimerkiksi hiukkasten lajittelusta, keräämistä, siirtämistä, sekoittamista tai irtiustelua samassa nestessä tai nestestä toiseen.

15 Hiukkaille, mikropartikkaleille (engl. micro particles) tai magneettipartikkaleille (engl. magnetic particles) tarkoitetaan kaikkia sellaisia pieniä hiukkasia, joiden halkaisija on pääasiallisesti mikrometrialueella, ja joita voidaan liikuttaa magnetismin avulla. Tunnettuja magneettin avulla siirrettäviä hiukkasia on paljon erilaisia ja soveltuksia, joissa niitä käytetään vaihtelevat myös paljon. Esimerkiksi mikrobiologiassa käytettävien hiukkasten koko on yleensä 0,01-100 µm, tavallisimmin 0,05-10 µm. Tunnettuja tällaisia hiukkasia ovat esimerkiksi ferromagneetti, paramagneetti tai supramagneetti materiaalia sisältävät hiukkaset. Hiukkaset voivat olla myös itsessään magneettisia, jolloin niitä voidaan liikuttaa minkä tahansa ferromagneettisen kappaleen avulla.

25 Mikropartikkelen käsittelyyn tarkoitettussa laitteessa on magnetismia hyväksi käyttävä elin, josta on seuraavassa käytetty nimettyä magneetti. Se voi olla kestomagneetti tai sähkömagneetti, joka vetää ferromagneettista hiukkasista puoleensa, tai ferromagneettinen kappale, joka ei itse ole magneettinen, mutta vetää silti magneettisia hiukkasia puoleensa.

30 Magneetti on tavallisesti edullisimmin pyöreä tankomagneetti. Se voi olla myös muun muotoisen tanko. Magneeti ei kuitenkaan larvile olla tariku lairikaan. Se voi olla myös lyhyt ja leveä, tai minkä muotoinen kappale tahansa. Magneetti voi myös olla muodosteltu yhdestä tai useammasta kappaleesta, kuljet magneeteista tai ferromagneettista kappalista.

35 Magneeti päällä on oltava suojuus, joka suojaa magneettia erilaisilta haitallisilta olosuhteilta ja mahdollisista mikropartikkelen käsittelyn, kuten sitomisen ja vapauttamisen.

Suojuksen rakenne voi vaihdella suuresti, sillä se voi olla esimerkiksi joustavaa tai venyvää materiaalia oleva ohut kalvo tai vaikka kovamuovia oleva kuppi.

Yleisesti mikropartikkeleita käytetään kiinteänä faasina (engl. solid phase) sitomaan erilaisia biomolekyylejä, soluorganelleja, bakteereja tai soluja. Mikropartikkeleiden pinnalle voidaan myös immobilisoida esimerkiksi entsyyymejä, jolloin entsyymin käsittely ja iatkokäyttö on tehokasta. Useimmat nk. magneettiset nanopartikkeliit (< 50 nm) eivät sovellu tavallisilla kestomagneeteilla tai sähkömagneeteilla käsitteläviksi vaan vaativat erityisen volmakkaan magneettigradienlin käyttämistä, kuten on esitetty julkaisussa EP 0842704 (Miltenyi Biotec). Tavallisilla kesto- ja sähkömagneeteilla voidaan tavallisesti käsittellä magneettipartikkeleita, kuten mikropartikkeleita, jotka ovat noin 0,1 µm tai suurempia halkaisijaltaan. Näytteen viskositeetti voi myös vaikuttaa partikkeleitten poimimista merkittävästi. Kerättävät partikkeliit voivat olla alunperin suspendoitua isoista nestemääräistä, joista halutaan siitä tutkittavaa ainetta tai vaikkapa soluja hiukkasten pinnalle. Erityisen tärkeää on voida käyttää isoja lähtötilavuuksia soveltuksissa, joista vähälukuiset komponentit halutaan saada eristettyä analysointia varten. Esimerkiksi patogenisten bakteerien tehokas rikastaminen suuresta näyttilavuudesta pieneen on kriittinen koska vaikuttaa suurana määryksen herkyyteen ja analyysiaikaan. Tällä hetkellä ei ole olemassa riittävän tehokasta tapaa tehdä mikropartikkeliin avulla konsentrointia suuresta tilavuudesta pieneen tilavuuteen. Edullista olisi se, että edellä kuvatun kaltainen suoritus olisi mahdollisimman yksinkertainen ja tehokas.

TEKNIIKAN TÄSO

Magneetin avulla käsittelylä mikropartikkeleita on käytetty jo 1970-luvulta lähtien. Tämä teknologia tuli hyvin suosituksi muun muassa immunomääritysissä. Mikropartikkeliin käyttämällä immunomääritysissä sítoutuneen抗原-antigeeni-vasta-aine kompleksin erottamiseksi vapaasta fraktiosta tarjosi merkittävän edun erityisesti reaktionopuudessa. Pääasiallinen kehitys mikropartikkellen hyväksikäytössä on viimeisten vuosien aikana tapahtunut molekyylibiologian, mikrobiologian ja solubiologian alueilla.

Perinteisessä menetelmässä reaktioliuoksessa olevat magneettipartikkeliit, kuten mikropartikkeliit vangitetaan ensiä ulkopuolisen magneetin avulla tietyyn kohtaan putken sisäseinään. Tämän jälkeen liuote yrteitään varovaicesti poistaa magnettipartikkeliin ympäriltä. Perinteisessä menetelmässä käsittellään aktiivilisesti nesteltä ja magneettipartikkeliit pysyvät samassa astiassa koko suoritukseen ajan.

Toisessa lähestymistavassa käytetään magneettia aktiivisesti siirtämään mikropartikkeleita. Magneetti työnnetään mikropartikkeleita sisältävään liuokseen, jolloin magneetti vetää puoleensa liuoksessa olevia mikropartikkeleita ja ne muodostavat kiinteän saostuman. Tämän jälkeen magneetti ja mikropartikkeli voidaan nostaa pois nestestä.

5 Magneetti partikkeleineen voidaan lämän jälkeen upottaa toisessa koeputkessa olevaan nesteeseen, jonka mikropartikkeli voidaan irrottaa magneestista. Tässä menetelmässä liuosten käsittely, pipetoirin ja imuvaaiheet (engl. aspiration phases) on minimoitu äärimmilleen.

10 Patentijulkaisussa US 2,517,325 (Lamb) kuvataan ratkaisu metalliesineiden poimimiseksi magneetin avulla. Julkaisussa kuvataan pilkku sauva-magneetti, jota liikutetaan rautaputken sisällä. Sauvamagneetin navat ovat fyysisen magneetin pituusakselin vastaisiaa päässä. Liikuttamalla magneettia rautapulkessa sisääripäin, voidaan magneettikenttää pienentää. Vastaavasti magneettia liikuttamalla ulos rautaputkestä magneettikenttää voimistuu.

15 Julkaisussa kuvataan ratkaisu, jolla voidaan kerätä metalliesineitä magneettilyksikön kärkiosaan. Julkaisussa kuvataan myös kiinteä muovisuoja, jolla magneetti voidaan suojaa.

20 Patentijulkaisussa US 2,970,002 (Laviano) kuvataan ratkaisu metalliesineiden keräämiseksi nestestä magneetin avulla. Julkaisussa kuvataan pitkä kestomagneetti, joka kerää partikkeleita magneettilyksikön kärkiosaan. Magneetti on kiinni metallitangossa ja suojuu erillisellä muovisuojalla. Julkaisussa esitetään kestomagneetin liikuttamisen ja magneetin suojan käytettävän muovieuojan yhteiskäyttöä. Julkaisussa kuvataan metalliesineiden kerääminen magneettilyksikön kärkiosaan ja metalliesineiden vapautus suojan päältä erityisen muovisuojan muotoilun avulla.

25 Patentijulkaisuissa US 3,985,649 (Eddelman), US 4,272,510 (Smith et al.), US 4,649,116 (Daty et al.), US 4,751,053 (Dodin et al.) ja US 5,567,326 (Ekenberg et al.) kuvataan ratkaisuja, joissa kalkissa magneetilla kerätään magnetoitavaa materiaalia suoraan liuoksesta. Näille julkaisuille on yhteistä myös se, että magneetit eivät ole suojuu erillisillä muovisuojilla. Näissä ratkaisuissa edellytetään magnettikärjen pesua CNNC seuraavan näytteen käsittelyä kontaminaationriskin ja epäpuhtauksien siirtymisefektin (engl. carry-over effect) poistamiseksi.

30 35 Patentijulkaisussa US 5,288,119 (Crawford, Jr. et al.) kuvataan ratkaisu, jolla voidaan kerätä metalliesineitä magneetin avulla. Julkaisun mukaisen laitteen magneettilä ei ole suojuu erityisellä suojalla eikä se soveltu metalliesineiden poimimiseen nestestä.

Julkaisussa kuvataan ratkaisu suurempien metalliesineiden poimimiseksi. Julkaisussa on esitetty pitkä sauvamagneetti, jota liikutaan ei-magneettisen putken sisällä. Tämän putken erityisominaisuus on se että se toimii magneetikentän estäjänä (engl. blocking) vaikka se ei ole magneettinen. Julkaisussa esitetään vaihtoehtoisina materiaalina tähän

- 5 tarkotukseen esimerkiksi vismutti tai lyijy tai niiden seos. Ratkaisun mukaisen laitteen magneetti ei ole suojaudu erityisellä suojalla eikä se sovella metallicsincident poimimiseen nestelstä:

Hakemusjulkaisussa WO 87/05536 (Schröder) kuvataan muovisuojan sisällä liikuttavan 10 kestomagneetin käyttöä ferromagneettisen materiaalin keräämiseksi niitä sisältävästä liuoksesta. Magneelin ulessa ala-aseennossa ferromagneettinen materiaali keräytyy magnettihiksikön kärkiosaan. Julkaisussa kuvataan näin kerätyn ferromagnettisen materiaalin siirtäminen toisessa astiassa olevaan liuokseen ja materiaalin vapauttamisen kärkiosasta sinne. Ferromagneettisen materiaalin vapauttaminen kuvataan suoritettavaksi 15 muovisuojan muotoilun avulla, joka estää materiaalia liikkumasta magneettia liikutettaessa ylöspäin.

Patentijulkaisussa US 5,837,144 (Bienhaus et al.) kuvataan menetelmä, mikropartikkelienv 20 keräämistä erityisen muovisujalla varustetun magneetin avulla. Tässä julkaisussa kuvataan mikropartikkelienv siirtoon liuoksesta, joka johtetaan astiasta pois erilaisin järjestelyin. Magneettia liikuttamalla voidaan mikropartikkeliit saada vapautumaan suojakalvon päältä.

Patentijulkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,040,192 25 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.) ja US 6,207,463 (Tuunanen) ja sekä patentihakemusjulkaisussa US 20010022948 (Tuunanen) kuvataan myös muovisujalla varustettuja laitteita mikropartikkelienv keräämiselle liuoksesta ja siirtämiseksi toiseen liuokseen. Näissä julkaisuissa kuvataan pääasiallisesti ratkaisuja, joiden tarkoituksena on käsittää mikropartikkeliit erittäin pienissä tilavuuksissa. Julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvataan laite, jolla mikropartikkeliit voidaan konsentroida aivan magnettihiksikön kärkiosaan. Julkaisussa US 6,020,211 (Tuunanen) kuvataan edellisessä julkaisussa esiteltyä laitetta käytettäväksi yhdessä suuren nk. perintelsen magneetin avulla kerättyjen mikropartikkeliiden elintämiin plenompiin astioihin. Julkaisussa US 6,040,192 (Tuunanen) kuvataan automatisoitua menetelmä mikropartikkelienv käytöstä spesifisissä 30 määritysissä ja pienien tilavuuksien käsittelyssä. Julkaisussa US 6,065,605 (Korpela et al.) jatketaan edelleen julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvatun ratkaisun soveltamista suurehkojen tilavuuksien käsittelyyn. Nyt kuvataan menetelmä, jossa

mikropartikkeliit on ensin kerätty erityisellä ison magneelin sisällävällä magneettiyksiköllä . Tämän jälkeen käytetään julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvattua magneettiyksikköä siirtämään mikropartikkelipellelli eläinpäin pienempiin astioihin. Julkaisussa US 6,207,463 (Tuunanen) samaten sovelletaan edellä kuvattua 5 magneettiyksikköä, jolla voidaan kerätä mikropartikkeleita aivan laitteen kärkiosaan. Hakemusjulkaisu US 20010022948 (Tuunanen) kuvaaa myös erittäin pieniä mikropartikkelimääärän käsittelymisläpilelyissä sille suunnitelluissa astioissa.

Patentijulkaisussa US 6,403,038 (Heermann) kuvataan laite, jossa on muovisuoja ja 10 erityiseen tankoon kiinnitetty kestomagneetti. Mikropartikkeliit kerätään muovisuojan kärkiosaan ja menetelmä on erityisesti tarkoitettu pienien tilavuuksien käsittelyn. Tangossa on erityinen uikoneva osa, jonka avulla magneetti ja tanko pysyy paikallaan suojaputkessa.

Patentissa EP 1058851 (Korpela) ja hakemusjulkaisussa WO 01/60967 (Korpela) 15 kuvataan laitteita, joissa on venyvä elastomerinen suojakalvo. Näissä ralkaisuissa mikropartikkeliit kerätään venyvän suojakalvon pinnalle, josta ne edelleen voidaan siirtää toiseen astiaan. Magneedin suojakalvo on tehty venyvästä materiaalista, jolloin kalvo on venyneenä mahdollisimman ohut. Nämä aikaansaadaan mahdollisimman pieni etäisyys magnettista nesteeseen.

20 Patentijulkaisussa US 5,610,077 (Davis et al.) kuvataan erityisen sisäputken ja ulkoputken yhteiskäyttöä suoritettaessa spesifisiä immunomääritetyksiä. Julkaisussa kuvataan erityisen sisäputkijärjestelyn avulla suoritettavia immunomääritetyksiä koeputkeeseen tai mikrotüitterilevyn eli mikrolevyn kuopassa pienellä nestetilavuudella . Kysellään putkijärjestelyllä voidaan koeputkessa tai mikrolevyn kuopassa olevan pienin nestetilavuuden nestepintaa nostaa ja näin saada alkaan putken reaktiivisen pinnan suureneminen ja liuoksenteihokas sekoitus. Julkaisussa ei mainita mikropartikkeliitä eikä konsentointila suuresta nestetilavuudesta pleneen nestetilavuuteen.

25 30 Missään edellä kuvaluissa palenleissa ei ole kuvallu menetelmää, jolla voitaisiin tehokkaasti kerätä erittäin suuria nestetilavuuksista mikropartikkeleita ja vapauttaa kerättyt partikkeliit pienempään nestetilavuuteen. Varsinkaan ei ole kuvallu realistista tapaa kerätä suuria mikropartikkelimääräitä suuresta nestetilavuudesta. Edellä mainituissa julkaisuissa kuvalaan ennenminkin pieneliköjen nestetilavuuksien, kulen 5-10 ml käsittelyä, ja erittäin pienien nestetilavuuksien käsittelyä. Jos halutaan sitoa proteiineja, peplidejä, nukleiiinhappoja, soluja, baktereja, viruksia tai muita komponentteja isosla tilavuudesta mikropartikkeliien pinnalle on olemassa tiettyjä perusedellytyksiä käytettäväille 35

optimaalisele partikkellimääärälle. Riippuen käytettävistä mikropartikkelaista, edullinen hiukkasten määrä eristettävästä nestemillilitraa kohti voi olla esimerkiksi vähintään 10^7 kpl esimerkiksi $1\text{--}5 \mu\text{m}$ halkaisijaltaan olevia mikropartikkaleita. Tarvittavien hiukkasten määrä kasvaa edelleen, jos tietystä yksikkötilavuudesta halutaan saada mahdollisimman

5 luotettavasti sidotuksi haluttu, erittäin harvalukuinen komponentti.

Varsinkin julkaisuissa US 5,942,124 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.), ja US 6,207,463 (Tuunanen) ja CP 0 787 296 (Tuunanen) kuvatun mikropartikkaleita on tarkoitus kerätä suurehkosta astiasta suuri määri erittäin pienellä 10 magneettilla hyvin terävän ja kapean sauvan pienen kärkiosuuteen, on epäkäytännöllinen.

Suurta määrää mikropartikkaleita ei voida siirtää pienen tilavuuteen pienen pisteen ympärillä, koska mikropartikkellimassan muodostaman pellon fyysiset mitat kasvavat nopeasti käsiteltävän nestetilavuuden myötä. Suuri mikropartikkolimassa pitää olla 15 kerättynä joko isolle alueelle tai erityiseen syvennykseen.

KEKSINNÖN TARKOITUS

Tämän keksinnön tarkoituksesta on aikaansaada menetelmä ja laite, joilla ei ole edellä esiteltyjä epäkohtelia. Keksinnön mukaiselle magneettiselle siirtomenetelmälle on 20 tunnusomaista se, että

Keksintö liittyy nimenomaan mikropartikkeliin aktiiviseen keräykseen ja siirtelyyn nesteestä toiseen. Menetelmää voidaan erilaisesti käyttää automaattisessa laitteistossa, jossa voidaan suorittaa erilaisia mikropartikkaleiden siirtoja, pesuja ja inkubointeja. 25 Automaattiseen laitteistoon on mahdollista yhdistää yksikötä, joiden tarkoituksesta on esimerkiksi PCR-reaktioiden tai erilaisten leimojen detektio.

KEKSINNÖN MUKAINEN SIIRTOI AITF

Keksinnön kohteena on myös mikropartikkeliin siirtolaite. 30

Keksinnön mukaisen laitteen keskeinen tekninen ominaisuus on se, että magneettikentän voimakkuutta ja kohdistusta suhteessa magneettia ympäriväärin suojakalvoon voidaan säädellä. Tämä voidaan toteuttaa liikuttelulla magneettia ferromagneettisessa putkessa siten, että se voi olla kokonaan putken sisällä, jolloin magneetin teho on mitätöntä 35 tai olematon, tai se voi olla osittain tai kokonaan putken ulkopuolella, jolloin magneetin teho ja keräyspinta ovat suhteessa magneetin ulkonevaan osaan yhdistämällä nämä

ominaisuudet magneettipartikkeliin siirtämiseen sopivan kokosiin astioihin aikaansäädään erittäin tehokas keräys- ja konsentointitapahtuma.

Putki voi olla raudasta tai muusta sopivasta materiaalista, jonka magneettiset ominaisuudet ovat sopivia estämään magneettivuota pääsemästä putken läpi. Magneetin tehoa voidaan säädellä muuttamalla magneetin paikkaa ferromagneettisen putken suhteeseen siten, että osa magneetista on putken sisällä. Vaihtoehtoisesti magneettia voidaan pilää paikallaan ja ferromagneettista putkea liikutetaan suhteessa magneettiin. Magneetti on kiinnitetty tankoon, joka voi olla ferromagneettinen tai ei ole ferromagneettinen, ja jonka avulla magneettia voidaan liikuttaa ferromagneettisessa putkessa.

Keksinnössä mainittava ferromagneettisen putken ominaisuuksia ja etuja ovat ainakin seuraavat:

1. Putki suojaa magneettia ja sen pinnointusta mekaaniselta rasitukselta
- 15 2. Putki vahvistaa magneettitangon rakennetta ja erityisesti putken ja liikkuvan tapin liittymiskohtaa
3. Putki mahdollistaa magneetin keräyspinnan ja keräysvoiman säätämisen
4. Putki suojaa ulkopuolisla magneettikentille herkkiä laitteita erityisesti silloin kun magneetti on putken sisällä
- 20 5. Pulkella voidaan venyllää ja/lai muulolla veniyvää suojakalvoa

Magneetti voi olla muodoltaan esimerkiksi pyöreä tanku tai lappi, mulla se voi olla myös muun muotoinen. Magneetin magnetointiakseli voi myös vaihdella. Magnetointiakseli voi olla joko pituussuuntainen, jolloin se on yhdensuuntainen tangon pilusakselin kanssa ja magneetin navat ovat tangon päässä. Tällöin magnetointi on saman suuntainen kuin ferromagneettinen pulki eli magneelin tai putken liikesuunnan suuntainen.

Magneelin magnetointiakseli voi kuitenkin olla myös puikillaissuuntainen, jolloin se on kohtisuorassa sekä ferromagneettisen putken että tankomaisen magneetin pilusakselin suhteen. Tällöin magnetointin suunta on kohtisuorassa magneetin tai putken liikesuunnan suhteen.

Toisaalta magneetti voi koostua myös useasta eri magneelista, jotka voivat olla samanlaisia tai erilaisia, ja jotka voivat olla kiinnitettyinä toisiinsa magneettivoiman avulla tai jonkin matenaalin välityksellä, joka on terromagneettista tai ei ole ferromagneettista. Magneetti voi olla myös yhdistelmä magneettista ja ferromagneettista materiaalia. Magneetti voi myös olla joko kestomagneetti tai sähkömagneetti.

Keksinnön mukaisella magnettijärjestelyllä, suojakalvolla ja käytettävillä astioilla voidaan käsilellä erilläin lehokkaasti mikropartikkeliita sekä suurissa että pienissä nestetilavuuksissa. Mikropartikkeliien keskittäminen aivan magneettiyksikön kärkiosan

- 5 tuntumaan mahdollistaa sekä konsentrainin suurista tilavuuksista että mikropartikkeliien käsittelyn pienissä tilavuuksissa. Keksinnössä kuvataankin universaalia ratkaisua mikropartikkeliien kanssa tehtäviin sovelluksiin sekä suuressa että pienessä mittakaavassa.
- 10 Keksinnön avulla saavutetaan ratkaisu, joka on optimaalin käytettäväksi laajasti mikropartikkeliien keräämiseksi ja siirtämiseksi sekä suurista että pienistä nestetilavuuksista. Erityisesti eksintö auttaa partikkelienv keräämistä suurista nestetilavuuksista ja niiden vapauttamista pleniin nestetilavuuksiin.
- 15 Keksinnössä esitetään erityisellä muovisuojan tai elastomeerin ulkopuolen muotoilulla saavutettavan riittävän tukean kerättävän mikropartikkelimassan edulliseksi ja luotettavaksi keräämiseksi suojan ympärille. Erityisellä muotoilulla tarkoitetaan esimerkiksi erikokoisia ja syyisiä uria, kumppia ja/tai kohoumia. Näiden muotoilujen lomien kerätyyessään mikropartikkelpelletti saa erityistä tukea suoasta kun magneettiysikköä siirrettäen ja
- 20 nestevirtauksia vastaan. Eriäin merkittävä on viskoosien näytteiden aiheuttama vaiketus, joka merkitsee pahimillaan sitä, että mikropartikkeliteit eivät pysy suojan kyljessä kiinni vaan jäävät liuokseen. Suurten tilavuuksien käsittelyssä edellä mainitulla muotoilulla on luonnollisesti suuri etu keräysvarmuuteen.
- 25 Keksinnössä kuvattu laite ja menetelmä on mahdollista ottaa käyttöön erittäin suurten tilavuuksien käsittelyssä ja toisaalta sitä voidaan soveltaa myös pienissä tilavuuksissa. Erityisen tehokas menetelmä on silloin kun optimoidaan magneettiysikkö, sen kanssa käytettävät astiat ja nestetilauudet keskenään. Erityisesti magneettiysikön syräytämän nestetilauuden käyttäminen nestepinnan korkeuden säätämiseksi on menetelmässä erilläin lehokas tapa konsentrointivaiheessa. Ensimmäistä kertaa kuvataan laite ja menetelmä, jonka mikropartikkelienv keräämisalaa, voimakkuutta ja mikropartikkelienv fyysisä sijaintipaikkaa voidaan säälää kulloislenkin tarpeiden mukaan.
- 30 Keksinnössä kuvataan laite ja menetelmä, jolla voidaan kerätä mikropartikkeleita monessa eri sovelluksissa. Keskeinen tekninen ratkaisu eksinnössä on magneettikentän voiman ja kohdistuksen säätelymahdolisuus ferromagneettisen putken avulla ympäröivään suojakalvoon, jonka ympärille mikropartikkeliteit kerätään. Magneettia voidaan liikuttaa

ferromagneettisen putken sisileeri ulos ja sisään, jolloin magneetin magneetikenttää muutetaan. Magneetin ollessa ulkona kohdistuu suojakalvoon sen suuruinen magneetikenttä kuin ferromagneettisen putken ulkopuolella on magneettia. Tällöin mikropartikkeliita voidaan kerätä suojakalvon ulkopuolelle. Kun magneetti on liikutettu kokonaan ferromagneettisen putken sisään ei ulospäin valkuta merkittävää magneetikenttää. Tässä tapauksessa mikropartikkkelit eivät kerääny suojakalvon ympärille vaan pysyvät liuoksessa. Putki voi olla kiinteä tai säädenävä jotta saadaan aikaan paras mahdollinen keräystehokkuus.

5 10 Keksinnön mukainen menetelmä ja laitemahdolliestavat seuraavat ratkaisut ja ominaisuudet:

1. Mikropartikkeliien kerääminen suuresta nestemäärästä.
2. Suuren mikropartikkelimäään kerääminen.
3. Saman laitteen käyttäminen pienien nestemäärien ja pienien mikropartikkelimäärien

15 15 keräämisessä.

4. Mikropartikkeliien kerääminen ainoastaan magneetin yhteen pähän tai yli koko magneetin pinnan.
5. Mikropartikkeliien kerääminen jäykää muovisuoja käytettäessä.
6. Mikropartikkeliien kerääminen venyvä, elastomeerista muovisuoja käytettäessä.

20 20 7. Erikoisten liikkeiden, kuten magneetin tai sen ympärillä olevan hankin liikkeiden hyödyntäminen.

8. Erikoisten astioiden käyttäminen konsentroinnissa.
9. Mikropartikkeli vapauttaminen pieneen nestemäärään.
10. Erikoisten magneettien käyttäminen optimaalisen mikropartikkeli keräysgeometrian

25 25 aikaansaamiseksi.

11. Tehokas sekoittaminen.
12. Koputken tai mikrolevyn kaivon tai kuopan sulkevinen suojakalvon avulla.

Mikropartikkeliissa voi olla affinitettiligandeja, entsyyymejä, vasta aincita, bakteereja, soluja tai soluorganelleja. Haluttujen komponenttien sitoutuminen voldaan myös saada aikaan valiteemalla käytettäviin mikropartikkeliin pinta-ominaisuudet ja puskurien kompositio sopivasti edulliseksi sitomaan haluttuja komponentteja näytteistä. Esimerkkeinä ovat ioninvaihto-, hydrofobinen- ja käänteisfaasikromatografia. Näissä esimerkiksi proteiinien sitoutuminen ja vapauttaminen mikropartikkellen pinnalta suoritetaan sopivasti valittujen puskurien ja liuosten avulla. Erittäin tärkeitä tekijöitä ovat tällöin esimerkiksi suolapitolsuus ja pH.

Affinitettiligandi voi olla esimerkiksi yksi- tai kaksisäikeinen nukleotidisekvenssi, kuten esimerkiksi DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA, mRNA tai cDNA (Complementary DNA), tai PNA (Peptide Nucleic Acid), proteiini, peptidi, polysakkaridi, oligosakkariidi, pienimolekyylinen yhdiste tai lektiini. Affinitettiligandi voi olla myös jokin seuraavista:

- 5 Ovomucoid, ProteinA, Aminophenyl boronic acid, Procion red, Phosphoryl ethanolamine, Protein G, Phenyl alanine, Proteamine, Pepstatin, Dextran sulfate, EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid), PEG (Polyethylene Glycol), N-acetyl-glucosamine, Gelatin, Glutathione, Heparin, Iminodiacetic acid, NTA (Nitrilotriacetic Acid), Lentil lectin, Lysine, NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide), Aminobenzamidine, Avidin, AMP,
- 10 Aprotinin, Avidin, Streptavidin, Bovine serum albumin (BSA), Biotin, Concanavalin A (ConA) ja Cibacron Blue.

Entsyymin tai affinitettiligandin immobilisointi mikropartikkeliin laskuttaa sitä, että entsyymi tai ligandi on kiinnitetty partikkelen pintaan tai että se on vangittu "hääkkimäisen" partikkelin sisään, kuilenkin niitä, elä ympäröivä liuos pääses kosketukseen sen kanssa.

- 15 Entsyymin tai affinitettiligandin kiinnittäminen mikropartikkeliin voidaan tehdä kovalenttisen sidoksen avulla, esimerkiksi kantajassa olevien amino- tai hydroksiryhmien avulla. Vaihtoehtoisesti sitominen voidaan aikaansaada biocaffiniteeniparin, esimerkiksi bioliini/streptavidiini -parin avulla. Erään tavan mukaan immobilisoitava entsyymi tuotetaan rekombinantti-DNA-teknologialla esimerkiksi *Escherichia coli* bakteerissa ja entsymin on tehty erityinen affinitetihäntä. Tämä affinitetihäntä sitoutuu mikropartikkeliin, joihin on sopivasti kiinnitetty kyseiseen affinitetihäntään voimakkaasti sitoutuva komponentti.
- 20 25 Affinitetihäntä voi olla pienimolekyylinen yhdiste tai proteiini. Tällaisella järjestelyllä halutun entsyymin puhdistamisessa voitaisiin tehokkaasti käyttää hyväksi mikropartikkaleita ja samalla mikropartikkeliin sitoutunut entsyymi olisi valmiiksi immobilisoitu mikropartikkelin pinnalle käytettäväksi keksinnössä kuvatussa menetelmässä.
- 30 Entsyymin tai affinitettiligandin kiinnittäminen mikropartikkeliin voi myös olla epaspesinen, ei-kovalenttinen, kuten adsorptio.

Keksinnön kohteena on laite ja menetelmä mikropartikkaleiden kerääminen hyvinkin erikokoisista astioista ja mikropartikkeliin siirtäminen astiasta toiseen. Erityisesti keksinnössä kuvataan laittetta, jolla voidaan suuresta tilavuudesta kerätä mikropartikkeliit ja konsentroida ne pienempään tilavuuteen. Käsite "mikropartikkeli" tarkoittaa tässä

yhteydessä partikkeleita, joiden koko suosittelavasti on 0,10-100 μm . Mikropartikkeli voi olla myös huomattavasti suurempien partikkeli esimerkiksi useita millimetriä halkaisijaltaan oleva partikkeli. Keksirinussa mikropartikkelil ovaal magneettisia, kuten esimerkiksi para-, superpara- tai ferromagneettisia, tai magnetoitavissa olevaa materiaalia, tai

5 mikropartikkelil on liitelly magneelliseen tai magnetoitavissa olevaan kappaleeseen ja että mikropartikkelit, joihin voi olla liitetynä esimerkiksi affinitetiryhmää tai entsyyymeitä, vangitaan ensimmäiseen asliaan upotetun magneettiyksikön avulla, siirretään magneettiyksikkö toiseen astiaan, ja vapautetaan mikropartikkelit magneettin vaikutuksesta sopivin eri tavoin kuten eksinnössä kuvalaan. Vaihtoehtoisesti mikropartikkaleja ei tarvitse erityisesti irrottaa magneettiyksiköstä.

10

Magneetti, jonka avulla partikkelit vangitaan, voi olla joko kestomagneetti tai sähkömagneetti. Magneettien muoto voi soveltuksessa riippuen vaihdella. Magneellikenttää voi olla magneeteissa erilainen: pituussuunnassa magnetoitu magneetti,

15 samansuuntaisesti kuin magneetin halkaisija magnetoitu tai useita magneettinapoja samassa magneettikappaleessa. Yksittäisiä magneetteja voi olla myös liitetynä toisiinsa tai sopivien ferromagneettisten tai ei-ferromagneettisten välikkappaleiden avulla.

Suojakalvo voi olla venymälöntä materiaalia kuten esimerkiksi polypropyleneä, polystyreeniä, polykarbonaattia, polysulfonia ja polyetyleeniä. Suojakalvo voi olla myös el-ferromagneettista metallia tai ferromagneettista metallia. Suojakalvo voi olla myös venyvä elastomerilista materiaalia kuten esimerkiksi silikonikumia, fluoraelastomeeria, polykloropreneä, polyuretaania tai klorosulfonaitua polyetyleeniä. Suojakalvo voi myös olla käsitledty erityisillä alineilla ja näin saada suojakalvon ominaisuuksia muutettua. Suojakalvo voi näin olla pinnoitettu esimerkiksi teflonilla (PTFE, Polytetrafluoroethylene). Erityisen tärkeää on volda vallta suojamateriaali ja mahdollinen lisäkäslitely siten, että lopputulos mahdollistaa eksinnön mukaisen toiminnan jopa erittäin voimakkaiden tai syövyttävien kemikaalien kanssa. Suojakalvo voi myös olla muotoiltu siten, että se mahdollistaa useden erillisten magneettiyksiköiden suojaksen, esimerkiksi 8, 12 tai 96 kanavaissa laitteissa.

20

25

30

35

Suojakalvon muoto voi olla joko putkimainen, levymäinen tai epäsäännöllisesti muotoinen. Erityisen monia mahdollisuksia on elastomeeristä suojakalvoa käytettäessä, koska tällöin sisältä oleva magneetti ja ferromagneettinen putki voivat myös muotoilla suojakalvoa.

Eräs edullinen vaihtoehto suojakalvolle on tasainen tai levymäinen, venyvä materiaalia oleva suojakalvo. Tällainen suojakalvo voi olla yksittäinen ja erityisessä kehyksessä oleva, venyvä kalvo. Kehyksen tarkoituksena on helpottaa suojakalvon käyttöä sekä aikaansaada kalolle venyttyseen sopivia ominaisuuksia. Toinen vaihtoehto on rullamainen

sovellusmuoto, jolloin suojakalvon vaihto voidaan tehdä yksinkertaisesti rullaamalla uutta suojakalvoa rullalta. Tähänkin vaihtoehtoon voi sisältyä kehyksen, crlyiscn tuen tai kannallinen käytlämminen silloin, kun suojakalvoa venytetään varsinaisen käytön aikana. Tällaisen, yhdestä levystä muodostuvan suojakalvon käyttäminen on erittäin suosittava

5 vaihtoehto silloin, kun halutaan vähentää materiaalin kulutusta eristys- ja puhdistustapahtumissa. Levymäisen suojakalvon käyttäminen on myös taloudellisesti halvempaa kuin muotityökaluilla valmistettujen muotolitujen ja Isokokoisten suojakalvojen käyttäminen.

10 Levymäisen suojakalvon käyttäminen automaatisessa laitteessa on erittäin yksinkertainen ja tehokas vaihtoehto. Levymäistä suojakalvoa käytettäessä voidaan ferromagneettisella holkilla suorittaa ensimmäisessä vaiheessa alkivenytys. Tässä vaiheessa magneetti on vielä ferromagneettisen holkin sisällä eikä suojakalvon ulkopuolella ole viiri mikropartikkeliin kohdistu magnettikenttää. Samalla kun suojakalvoa pidetään edelleen

15 venytetynä, voidaan magneettia tuoda sopivasti ulos ferromagneettisen holkin sisältä. Tällöin magneetti venyytää suojakalvoa vielä lisää ja saa aikaan mikropartikkien kerääntymisen suojakalvon ympärille kohtaan, jossa magneetin napa tai navat ovat. Liikuttamalla magneettia holkin sisälle tai ulos saadaan liuosta koeputkessa sekoitettua magneetin avulla. Sekoitus voidaan suorittaa myös ferromagneettista holkkia liikuttamalla ylös ja alas.

20 Erityisen edullinen edellä esitetty sovellusmuoto on käsiteltäessä mikropartikkelia pionissä astioissa, kuten esimerkiksi mikrolevyissä, joissa on 96 tai 384 kaivoa. Esitetty liuoksen ja mikropartikkellen sekoltustapa on edullinen siksi, että koko laitetta ei tarvitse liikuttaa. Sekoitus tapahtuu palkastääni liikuttamalla magneettia ja/tai ferromagneettista holkkia. Erityisen optimaalinen esitetty ratkaisu on siltä syystä, että prosessissa ei tarvita perinteisiä ravistelijoita lainkaan. Onhan tunnottu tosiasia se, että perinteiset ravistelijat eivät pysty sekoittamaan tehokkaasti pieniä liuosmääriä eikä varsinkaan pitämään mikropartikkelia liuoksessa. Tunnettujen laitteiden suuri ongelma onkin mikropartikkeliin

25 nopea sedimentointuminen kuopan pohjalle.

30 Edellä mainitussa luvineluissa mikrolevyissä, joissa käytetään pieniä nestetilavuuksia, on nesteen haihtuminen inkubaatioiden ja sekoitusten aikana myös erityisen kriittinen asia. Käytäväillä suojakalvoa esileyllä lavalla keksinnön mukaisesti mikropartikkeliteita voidaan käsitellä myös pienissä tilavuuksissa, koska suojakalvo sulkee samalla kuopan suun, jolloin nesteen haihtuminen vähenee. Siksi mikrolevyissä ei keksinnön mukaan enää

tarvita erillistä alumiinista, kumista tai liimataipin muudostamalla sulkijakan ta sekotuksien ja inkubaatioiden ajaksi.

Etenkin silloin kun siirtolaitteissa käytetään erilisia suojakalvoja, niin suojakalvo voi olla

5 muotoiltu kärkiosastaan erityisellä tavalla. Kärkiosan muotoilu voi olla tarkoitettu aikaansaamaan mahdollisimman suuren mikropartikkelimääärän siirtämisen luotettavasti esimerkiksi viskuosista biulugisesta näytteestä toiseen astiaan. Kerättäessä suuria määriä mikropartikkeleita pitkänomaisen suojakalvon kärkiosaan, kuten pituussuunnaessa magnetoitua kestomagneettia käytettäessä tapahtuu, ural uluimmat

10 mikropartikkelerrokset koko ajan vaarassa irrota ja jäädä liukseen. Myös nestejännitys liuoksen ja ilman rajapinnassa on erittäin voimakas ja saa vikaan samankaltaisen mikropartikkeleita irrotavan vaikutuksen.

Suojakalvona voidaan myös muodostaa niin, että mikropartikkelit pysyvät mahdollisimman hyvin

15 kiinni suojakalvossa siirtolaitetta liikuttaessa syntyyvistä virtauksista huolimatta sekä nestepinnan läpäisystä ja nestepinnan pinta-jännityksen vaikutuksesta huolimatta. Sitä varten suojakalvon kärkeen voidaan tehdä erilaisia syvennyksiä ja ulkonemia, joilla aikaansaadaan kerättyjen mikropartikkeliin luotettava siirto toiseen liukseen. Tällöin suojakalvo voi olla joko venyvä tai venymätöntä materiaalia.

20 Venyvästä materiaalista tehdynä suojakalvoessa voi olla erityinen muotoilu, jolla saadaan varmistettua sekä suuren mikropartikkelimääärän luotettava keräminen että siirtäminen alettaa toiseen. Sitä varten suojakalvon reunalla voi olla erityisiä kohoumia ja syvennyksiä, joihin mikropartikkelit kerääntyvät. Tällöin on edullista käyttää

25 poikkisuuntaisesti magnetoitua magneettia, jolla mikropartikkeleita saadaan kerättyä isolle pinnalle. Suojakalvon muotollulla alkaansaadaan erityislä mikropartikkellmassoja kannattavia rakenteita. Muotoilulla vaikutetaan myös nestevirtausten ja nestejännityksen haittseviin vaikutuksiin. Venyvä materiaalla ja eri paksuisla kohilla käytettäessä suojakalvon kohumat ja syvennykset venivät eri tavoin. Tätä ilmiötä voidaan tehokkaasti käyttää hyväksi sekä mikropartikkeliin irrotuksessa että varsinkin lehukkaan sekotuksen aikaansaamiseksi liukseen.

Suurten mikropartikkellmassojen konsentroinnissa pienempiin tilavuuksiin edellytetään

30 tehokasta sekoitusta, jonka avulla mikropartikkelit saadaan tehokkaaksi irluvaan suojakalvon seinämältä. Esitetyllä tavalla suojakalvo itsessään toimii sekoituksen aikaansaavana elementtinä ja on näin ollen erittäin tehokas laite sekoituksen suorittamiseksi. Edullisimmin suojakalvon muotoilu on erilainen eri kohdissa suojakalvoa.

Haluttaessa kerätä mikropartikkeliit iluoksesta liikutetaan magneettia alas ja samalla venytetään kalvoa. Suojakalvoa venytetessä sen pinnan erityinen muotoilu aikaansaamikropartikkeliien keraantymisen suojaisiin tai kannatteleviin alueisiin suojakalvon pinnalla.

5 Kun mikropartikkeliit halutaan irrottaa suojakalvolta, niin magneettia liikutetaan ylös päin ferromagneettisen holkin sisälle. Mikropartikkeliien irrotuksen varmistamiseksi voidaan ferromagneettista holkkia liikuttaa samalla alas päin, mikä venyttää suojakalvoa, ja sen jälkeen taas ylöspäin sekä toistaen näitä liikkeitä sopivasti.

10 Samalla neste astiassa on saatu sekotumaan erittäin tehokkaasti, koska suojakalvon pinnan sopiva muotoilu toimii kuin vedenalainen paljcpumppu. Vaihtoehtoiseksi on myös mahdollista liikuttaa magneettia alas päin ja sitten venytää suojakalvoa, kun halutaan aikaan aada tehokas sekoitus edellä kuvattuun ilmiöön perustuen. Magneettin liikkutaminen ferromagneettisen putken sijasta saa samalla alkaan myös mikropartikkeleniin liikkien kohti magneettia ja suojakalvon pintaa, mikä edelleen tehostaa sekoitusta. Näitä edellä mainittuja tapoja sekoittaa nestettä voidaan myös sopivasti yhdistellä. Tällainen sekoitusmenetelmä toimii myös käytettäessä pituussuunnassa magnetoitua magneettia.

KEKSINNÖN MUKAINEN REAKTIOYKSIKKÖ

Keksinnön kohteena on myös mikropartikkeliien reaktioyksikkö. Keksinnön eräään edullisen sovellusmuodon mukaan eksinnön mukainen siirtolaite voi muodostaa myös reaktioyksikön (engl. reactor unit), jossa astia tai reaktori voi olla eri materiaaleista valmisteltu ja vaihtelevan muotoinen. Astiassa, joka muodostaa reaktorikammion (engl. reactor chamber) voi olla yksi tai useampi aukko nesteiden sisään- ja ulosviertä varten. Astiassa voi olla järjestely, jolla käsitteltyvää nestettä kierrätetään uudestaan käsitteltyväksi astian sisään. Astia voi olla osa suurempaa kokonaisuutta, jossa on useita erilaisia ja erikokoisia astioita liitetynä sopivasti toisiinsa.

Keksinnössä kuvattu ferromagneettinen putki voi olla yksittäinen putki, joukko useampia putkia yhdessä tai järjestely, jossa yksittäiset putket muodostavat erityisen muodostelman putkia. Eräissä eksinnön suoritusmuodossa ferromagneettinen putki voi olla erityinen ferromagneettinen levy, jossa on yksi tai useampi reikä, joissa yksi tai useampi magneetti voi liikkua. Tällainen järjestely on erityisen edullinen käsitteltyessä pieniä tilavuuksia esimerkiksi 8, 24, 48, 96 ja 384 kuoppalevy-formaateissa, kuten mikrolevyissä tai vastaavissa.

35 Varsinkin erittäin suuria tilavuuksia käsitteltyessä voi olla edullista sisällyttää useita magneettiyksikköjä magneettiyksikköryhmäksi, jolloin keräyspinta on suurilla

mikropartikkelimassolle voidaan entisestään kasvattaa. Lisäksi suojakalvon muotoilulla voidaan saavuttaa edullisia vaihtoehtoja suurten partikklimassojen käsittelyyn.

Esitettyllä laitteella voidaan kerätä mikropartikkeleita useista eri astioista tai voidaan tehdä järjeslely, jossa nesle kulkee tasaisena virtana sauvojen ohi. Jälkimmäisessä tapauksessa on se etu, että siiä suurtenkin tilavuuksien operoiminen on suhteellisen vaivatonta. Näissä kummassakin tapauksessa on lähtöletuksesta ollut se, että partikkelit ovat ensin vapaasti liuoksessa, josta ne sitten kerätään keksinnössä kuvatulla menetelmällä.

5 10 15 20 25 30 35

Keksinnön mukaisesti yhdellä suojakalvon sisällä voi myös olla useita magneettisauvoja suojakalvon sisäkehällä sopivasti järjestettyä. Erityisesti tämä koskee erittäin suurikokoinen suojakalvon tapausta, jolloin käsitellään erittäin suuria nestetilavuuksia. Toinen vaihtoehto on käyllä yllä erittäin iso magneettisauva suurikokoinen suojakalvon sisällä.

Keksinnön mukaisesti voi olla myös ratkaisu, jossa erikseen on magneettisauvat keräämään mikropartikkeleita ja erityinen laite tai sauva liikuttelmaan neslepiinlaa sopivasti keksinnössä kuvatulla tavalla. Tämä ratkaisu mahdollistaa ratkaisuja, joissa magnettisauvat eivät liiku lainkaan vaan nesteen ja mikropartikkeliensä liikutus hoidetaan sille erityisesti suunnitellun elimen avulla. Tällaisessa ratkaisussa käytettävä astia tai reaktori on sopivasti suunniteltu vastaamaan kuvattuja tarpeita.

Eräissä keksinnön mukaisessa sovellusmuodossa on monta erillistä magneettisauvaa, joihin jokaiseen kuuluu oma suojakalvonsa. Nämä magneettisauvat voivat olla ryhmitelty sopivan muotoon eli kaarelle, kuten esimerkiksi viuhkaksi rivin, ympyrän kaarelle tai usealle sisäkkäiselle ympyrän kaarelle, jossa jokainen sauva kerää ympärilleen sopivan määrän mikropartikkeleita.

Jos tällainen ratkaisu on vielä sijoitettuna suljettuun astiaan tai reaktoriin, jonne voidaan lisää läpiseen mukaan nestettä, ja jossa voi olla erillinen venttiili, josta käsiteltävä neste voidaan päästää pois, niin näin aikaan saadulla ratkaisulla voidaan käsitellä erittäin suuria nesletilavuuksia. Jos näin kuvattua reaktorityyppiä pidetään kyljellään ja magneettisauvacysteemiä voidaan pyörättää suhteessa reaktorin suoja-kuoriin, niin tällaisella ratkaisulla voidaan saada myös sekoitus käsiteltäessä nestemäisiä näytteitä ja mikropartikkeleita. Mikropartikkelit voivat olla myös valmiiksi magneettisauvoissa kiinni tai ne voidaan sopivasti prosessin aikana kiinnittää magneettisauvojen suojan päälle ja näin aktiivista pintaa on reaktorissa erittäin paljon. Sekoittamalla saadaan käsiteltävä neste

kulkemaan mikropartikkeliin lomitse siten, että halutut komponentit kuten esimerkiksi proteiinit tarituват sauvojen pääällä oleviin mikropartikkeliin. Toisaalta neste voidaan saattaa mikropartikkeliin lomitse järjestämällä nestevirtaukset sopivasti astiaan tai reaktorin sisällä.

5

Keksinnön mukainen laite ja menetelmä eivät rajoitu vain esimerkiksi molekyylibiologian tai proteiinien puhdistukseen, vaan ne ovat yleisesti sovellettavissa silloilla, joilla voidaan käyttää mikropartikkeliin sidottuja ligandeja syntetisoimaan, sitomaan, eristämään, puhdistamaan tai rikastamaan haluttuja tekijöitä erilaisista näytteistä: diagnostiset sovellukset, biolääketiede, patogenien rikastaminen, kemikaalien syntetisoaminen, bakteerien ja solujen eristäminen.

KEKSINNÖN KÄYTÖSOVELLUKSET

Keksinnön mukainen laite ja menetelmä soveltuu käytettäväksi erittäin monilla sovellusalueilla esimerkiksi proteiinikemian, molekyylibiologian, solubiologian ja proteomiikan alueilla. Keksinnöllä on sovelluksia teollisuudessa, diagnostiikassa, analytiikassa ja tutkimuksessa.

Proteiinien puhdistuksessa on larvella lehdä puhdistuskokelita pienissä tilavuuksissa ja toisaalta kasvattaa kapasiteettia hyvin suuriin tilavuuksiin. Kuvatulla eksinnöillä voidaan suorittaa proteiinipuhdistuksia tarpeen mukaan erilaisista näyttilätilavuuksista. Proteiinikemisteillä on tarve pystyä puhdistamaan proteiinia mahdollisimman vähän esikäsittelyistä näytteistä, kuten esimerkiksi solulyoosaleista (engl. Cell Lysate). Tärkeää on myös varia vaihdella puhdistuskapasiteettia muuttuvien tarpeiden mukaan. Nykyään se on mahdollista vaihtamalla käytettäviä pylväskokoja. Puhdistuksen edetessä proteiinin konsentroiminen on yksi keskeisistä toimenpiteistä. Käytännössä tämä tarkoittaa nestetilavuuden pienentämistä ilman proteiinien merkittävää häviämistä tai denaturoitumista. Nykyisin yleisimmin käytetyt menetelmät ovat dialyysi tai suodatus. Molemmat ovat erittäin paljon aikaa vieviä menetelmiä. Tässä eksinnössä kuvatulla laitteelle ja menetelmällä voidaan tarjota proteiinialueelle monipuolinen ja vaihteleviin näyttilätilavuuksiin soveltuva menetelmä. Kapasiteetin muuttaminen on helppoa ilman uusien kolonnioiden ostamista tai valmistamista. Yksinkertaisesti valitaan suurempaan näyttilätilavuteen suurempi määriä mikropartikkeliita ja proteiinien sitomisen jälkeen kerataan eksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä mikropartikkeliit ja proteiini pois liuoksesta. Pesuvaiheet voidaan suorittaa joko samassa astiassa tai vaihtamalla astiasta. Edellisessä tapauksessa käytetyt pesupuskurit pitää johtaa pois astiasta ja saada uusi pesupusku tilalle. Puskarin vaihto voidaan suorittaa myös erilaisilla venttiilijärjestelyillä tai

imujärjestelyillä. Pesujen jälkeen vuokraan halullaessa vapauttaa mikropartikkeliin sitoutuneet proteiinit pienoen tilavuuteen ja konsentroida proteiiniliuos tehokkaasti. Tarpeen mukaan vuokraan tilavuuden pienentäminen tehdä valheittein pienempää tilavuutta kohti.

5

Keksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä voidaan tehdä esimerkiksi ioninvaihto kromatografiaa, käänteisfaasi kromatografiaa, hydrofobista kromatografiaa ja affinitettkromatografisia puhdistuksia. Geelisuodatuksenkin kuvatulla laitteella pysyvästi, mutta se edellyttää varsinaisen geelisuodatuksen suorittamista esimerkiksi

10

kolonnissa ja tämän jälkeen mikropartikkeliin keräämisen keksinnön mukaisella laitteella ja proteiinien ulosajamisen pienoen tilavuuteen. Menetelmä mahdollistaa esimerkiksi suojanpoistamisen näytteistä ilman suurta näytteen lajienemista verrattuna printeiseen geelisuodatuskolonneihin.

15

Immobilisoitujen entsyyymiä käyttämisen erilaisten proteiinien, sokerien, rasvojen ja erilaisten nk biopolymeerien prosessoimisessa on erittäin tärkeä sovellusalue kuvatulle keksinnölle. Tärkeä ominaisuus verrattuna liukoisten entsyyymiä käyttämiseelle on immobilisoitujen entsyyymiä helppo uudallaenkäyttömahdollisuus. Kuvatulla keksinnöllä immobilisoidun entsyymin pesominen jatkokayttöä varten on erittäin helppoa ja tehokasta.

20

Esimerkkjä koskisistä, muun muassa toollisuudessa käytetyistä entsyymiryhmistä ja yksittäisistä entsyymelistä ovat:

25

- **KARBOHYDRAASIT:** Alpha-Amylases, Beta-Amylase, Cellulase, Dextranase, Alpha-Glucosidase, Alpha-Galactosidase, Glucoamylase, Hemicellulase, Pentosanase, Xylanase, Invertase, Lactase, Pectinase, Pullulanase

- **PROTEAASIT:** Acid Protease, Alkaline Protease, Bromelain, Ficin, Neutral Proteases, Papain, Pepsin, Peptidases, Rennin, Chymosin, Subtilisin, Thermolysin, Trypsin

- **LIPAASIT AND ESTERAASIT:** Triglyceridases, Phospholipases, Esterases, Acetylcholinesterase, Phosphatases, Phylase, Amidases, Aminoacylase, Glutaminase, Lysozyme, Penicillin Acylase

- **ISOMERAASIT:** Glucose Isomerase, Epimerases, Racemases

- **OKSIDOREDUKTAASIT:** Amino Acid Oxidase, Catalase, Chloroperoxidase, Glucose Oxidase, Hydroxysteroid Dehydrogenase, Alcohol dehydrogenase, Aldehyde dehydrogenase, Peroxidases

- **LYAASIT:** Acelotactic Decarboxylase, Aspartic Beta-Decarboxylase, Fumarase, Histidase, DOPA decarboxylase

- TRANSFERAASIT: Cyclodextrin Glycosyltransferase, Methyltransferase, Transaminase, Kinases
- LIGAASIT
- FOSFATAASIT: Alkaline Phosphatase

5

Entsyymien käyttäminen on erittäin yleistä monilla eri teollisuuden haaroilla, joista seuraavassa muutamia esimerkkejä: lipidien, proteiinien, peptidien, steroidien, sokerien, aminohappojen, lääkeaineiden, muovien, hajusteiden, kemikaalien ja nk. chiral kemikaalien synteesit ja modifiointi.

10

Myös erilaiset glykobiologiaan liittyvät syntetisoivat ja pilkkovat entsyymillä kuten esimerkiksi endo- ja exoglykosidaasit kuuluvat keksinnön piiriin. Samaten molekyylibiologian sovelluksista tututut entsyymit kuten restriktioentsyymit, nukleaasil, ribozymes, polymeraasit, ligaasit, käänteistranskriptaasit, kinaasit ja fosfataasit kuuluvat keksinnössä kuvatun menetelmän piiriin. Esimerkkeinä DNA/RNA modifioivista entsyymeistä voidaan mainita: CIAP (Calf Intestinal Alkaline Phosphatase), E. Coli alkaline phosphatase, eksonukleaasit (esimerkiksi P1 nukleaasi, S1 nukleaasi), ribonukleaasit, RNAasit (esim. Pancreatic RNAasi, RNAasi H, RNAasi T1, RNAasi M, RNAasi T2), DNA ligaasit, RNA ligaasit, DNA polymeraasit, Klenow entsyymi, RNA polymeraasit, DNA kinaasit, RNA kinaasit, terminal transferaasit. AMV reverse transcriptase ja fosfodiesteratasit. Naiden ja muiden DNA/RNA modifioivien entsyymien käyttö on erittäin monimuotoisista sekä molekyylibiologian tutkimuksessa että sovelluksissa. Proteomikassa ja proteiinikemiassa proteaseit ovat erittäin tärkeitä entsyymejä, joista erittäin esimerkkejä ovat trypsiini, kymotripsiini, papaioni, pepsioni, collagenaasi, dipeptidyl-peptidaasi IV ja erilaiset endoproteinaasit. Synteettiset entsyymit, katalyyttiset vasta-aineet ja multientsyymikompleksit ovat mahdollisia käytettäväksi keksinnössä kuvattulla tavalla. Keksinnön käyttöä ei myöskään rajoita entsyymien ja muiden katalyyttisten komponenttien käyttö vedettömissä olosuhteissa esimerkiksi orgaanisissa iluottimissa.

30 Konkreettisina esimerkkeinä keksinnöitä soveltuksista molekyylibiologian alalla voidaan mainita:

DNA INSERTTIEN KLOONAUUS:

DNA insertiien kloonauksessa tarvitaan restriktioentsyymejä, (Esim. EcoR I, Hind III, Bam HI, Pst I, Sal I, Bgl II, Kpn I, Xba I, Sac I, Xba I, Hae III, Pvu II, Not I, Sst I, Bgl I), creating blunt ends (esim. lämpöoslabiiliil polymeraasil, Klenow Fragment DNA Polymerase I, Mung Bean nukleaasi), ligaatiot (esim. T4 DNA Ligase, E. coli DNA Ligase, T4 RNA Ligase).

fosforyointi (esim. T4 Polynucleotide Kinase), defosforylaatio (esim. CiAP, E. coli Alkaline Phosphatase, T4 Polynucleotide Kinase) ja deleetiot (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiiliil polymeraasit, Exo III Nuclease, Mung Bean Nuclease)

5 cDNA:n SYNTETISOINTI JA KLOONAUUS:

Reverse Transcriptase, RNase H, DNA polymerase I, T1 DNA polymerase I, E. coli DNA Ligase.

NUKLEIINIHAPPOJEN LEIMAUS:

- 10 5' leimaus (esim. T4 Polynucleotide Kinase), 3' addition (esim. T4 RNA Ligase), 3' fill-in (esim. Klenow Fragment DNA Polymerase I, T4 DNA Polymerase), 3' exchange (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiiliit polymeraasit), nick-translation (esim. E. coli DNA Polymerase I, lämpöstabiiliit polymeraasit), replacement synteesi (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiiliit polymeraasit, Exo III Nuclease), random priming (esim. Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiiliit polymeraasit) ja RNA koellimiet (esim. T7 RNA Polymerase, SP6 RNA Polymerase).

NUKLEIINIHAPPOJEN SEKVENTOINTI:

- 20 DNA:n sekventointi (esim. E. coli DNA Polymerase I, Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiiliit polymeraasit) ja RNA:n sekventointi (esim. Reverse Transcriptase, lämpöstabiiliit kääntcistanskriptaasit).

NUKLEIINIHAPPOJEN MUTAGENOINTI:

- 25 Oligonucleotide directed (esim. T4 DNA Polymerase, T7 DNA Polymerase, lämpöstabiiliit polymeraasit) ja Misincorporation (esim. Exo III Nuclease, Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiiliit polymeraasit).

MAPPING:

- 30 Restriction (esim. Exo III Nuclease), Footprinting (esim. Exo III Nuclease) ja Transcripl (esim. Reverse Transcriptase, Mung Bean Nuclease).

NUKLEIINIHAPPOJEN PUHDISTAMINEN:

Genomisen DNA:n, PCR fragmenttien, DNA/RNA koottimien ja plasmidi DNA:n eristäminen ja puhtaudostaminen.

35

DNA DIAGNOSTIC TECHNIQUES:

DNA Mapping, DNA:n sekvenointi, SNP-analyysit (Single Nucleotide Polymorphism), kromosomianalyysit, DNA kirjastot, PCR (Polymerase Chain Reaction), Inverse PCR, LCR (Ligase Chain Reaction), NASBA (Nucleic Acid Strand-Based Amplification), Q beta replicase, Ribonuclease Protection Assay.

5

DNA DIAGNOSTIICKAA:

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Polymorphism), bakteeri-infektioiden diagnostikka, bakteerien antibioottiresistenttiyks DNA Fingerprints, SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) ja DNA:n sekvenointi.

10

Solujen eristämisesessä kuvattua menetelmää voidaan käyttää myös laajasti hyväksi. Kiinnostavia soluja ovat muiden muassa kantasolut, B-lymfosyytit, T-lymfosyytit, endoteeliset solut, granylosyytit, Langerhansinsolut, leukosyytit, monosyytit, makrofagit, myeloid cells, NK solut (engl. Natural Killer Cells), retikuloesytit, trophoblasts, syöpäsolut, transfektoidut solut ja hybridomasolut. Solujen eristämisesessä voidaan käyttää yleisesti tunnettuja menetelmiä kuten esimerkiksi suoraa tai käänteistä solujen eristämistapaa. Erisin mainitussa, suorassa eristämislavassa, halutut solut kerätään erilleen näytteestä sitomalla ne mikropartikklein pintaan esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita hyväksikäytämällä. Epäsuorassa menetelmässä iraluttuja soluja ei sidota mikropartikkeliin kiinni vaan kaikki muut näytteessä olevat solut. Halutut solut jäävät tässä tapauksessa liuokseen.

15

Bakteerien, virusten, hiirojen ja monien muiden yksi tai monisolustien eliöiden eristämiseen, puhdistamiseen ja/tai rikastamiseen keksinnössä kuvattu menetelmä soveltuu hyvin. Erityisen tärkeä sovellusalue on patogenisten bakteerien, kuten esim. salmonella, listeria, campylobacter, E. coli O157 ja clostridium, virusten, parasiittien, alkueläinten tai muiden pieniöiden rikastaminen isosta neste-tilavuudesta. Keksinnössä kuvattua laitetta ja menetelmää voidaan hyödyntää myös näillä sovellusalueilla.

20

Biokatalyysillä ymmärretään yleisesti bakteerien, entsyymien tai muiden entsyymejä sisältävien komponenttien käyttämistä prosessissa. Entsyymit tai bakteerit voivat olla immobilisoitua sopivaan kiintokantajaan ja käsiteltävä aine saatetaan immobilisoitujen komponenttien kanssa yhteyteen esimerkiksi perinteisiä kolonneja käytämällä. Tämän keksinnön mukaisesti soluja tai entsyymejä voidaan kiinnittää sopivasti mikropartikkeliin, joita sitten käytetään keksinnön mukaisesti suorittamaan erilaisia entsyymaattisia reaktioita.

Soluorganellien ja erilaisten solustruktuurien eristäminen kuuluu myös keksinnön sovellusaluiden piiriin. Soluorganellit voidaan eristää normaalilin tapaan käyttämällä hyväksi esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita tai erilaisia affinitettiligandeja.

- 5 Nukleïinihappojen puhdistuksessa on hyvin erilaisia tarpeita lähtien aivan pienesten DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA (Ribonucleic Acid) tai mRNA (Messenger RNA) määrien puhdistuksesta suuriin monien litrojen käsittelytarpeisiin. Tämän keksinnön mukaisella menetelmällä voidaan sekä suurista että pienistä näytämääristä eristää nukleïinihappo tehokkaasti.
- 10 Menetelmän avulla voidaan ketjuttaa eristys- ja puhdistustapahtumia erilaisien tarpeiden mukaan. Voidaan esimerkiksi ensin eristää halutut solut näytteestä ja puhdistaa ne. Tämän jälkeen solusta voidaan eristää esimerkiksi soluorganellit erilleen. Soluorganellit puhdistetaan ja prosessi voi jatkua esimerkiksi DNA:n tai proteiinin puhdistamiseen.
- 15 Prosessin alkana voidaan valhdella erilaisilla päälystyskäytäntöillä ja ominaisuuksilla varustettuja mikropartikkaleita tarpeiden mukaan. Viimeinen vaihe on puhdistetun tuotteen konsentroiminen haluttuun tilavuuteen.

LYHYT SELOSTUS PIIRUSTUKSISTA

- 20 Kuviot 1A-1G esittävät kaaviollisesti keksinnön mukaisen mikropartikkelen siirtolaitteen magneettiyksikön eri sovellusmuotoja leikattuna.
- Kuviot 2A-2G esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön magneettien eri sovellusmuotoja ja niiden magneettikenttiä.
- Kuviot 3A ja 3B esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön sovellusmuotoja sijoitettuna 25 mikropartikkaleita sisältävään liuokseen.
- Kuviot 4A-4B vastaavat kuvioita 3A ja 3B ja esittävät magneettiyksikön toisia sovellusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 5A-5E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.
- 30 Kuviot 6A-6E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja poikittaissuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 7A-7E esittävät venyvällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 8A-8E esittävät venyvällä suojakalvolla ja poikittaissuuntaisesti magnetoidulla 35 magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 9A-9G esittävät magneettiyksikön käytön vaiheita siirrettäessä mikropartikkaleita astiasta toiseen.

Kuvio 10 esittää käsin käytettävää mikropartikkellen siirtolaitetta sivulta pään nähtynä ja leikattuna.

Kuvio 11 esittää käsin käytettävää mikropartikkelien monikanavaisiirtolaitetta sivulta pään nähtynä ja leikattuna.

5 Kuvio 12 esittää kaaviosesti siirtolalteautomaattia.

Kuvio 13 esittää vielä erästä magneettiyksikön sovellusmuotoa sivulta pään nähtynä ja osittain leikattuna.

Kuvio 14 esittää eksinön mukaista reaktoriaetiaa sivulta pään nähtynä ja leikattuna.

Kuvio 15 esilläksi eksinön mukaista reaktoriyksikköä (engl. sivulta pään nähtynä ja osittain leikattuna).

10 Kuvio 16 esilläksi kuvion 15 reaktoriyksikköä vaaka-asennossa.

Kuvio 17 esittää eksinön mukaista closuhdekaappia (engl. environmental cabinet) perspektiivikuvaana.

Kuvio 18 esittää koeputkea (engl. tube) sivulta pään nähtynä ja leikattuna.

15 Kuvio 19 esilläksi sivulta pään nähtynä ja leikattuna koeputken yhteydessä olevaa magneettiyksikköä, jonka holki on ensimmäisessä asennossa.

Kuvio 20 vastaa kuvia 19 ja esittää tilannetta, jossa magneettiyksikön holki on toisessa asennossa.

Kuvio 21 vastaa kuvia 19 ja esittää tilannetta, jossa magneettiyksikön holki on kolmannessa asennossa.

20 Kuvio 22 vastaa kuvia 18 ja esittää koeputkea toisessa tilanteessa.

Kuvio 23 esittää toisenlaisella suojakalvolla varustettua magneettiyksikön sovellusmuotoa sivulta pään nähtynä ja osittain leikattuna.

Kuvio 24 vastaa kuvia 23 ja esittää magneettiyksikön toimintaa toisessa vaiheessa.

25 Kuvio 25 vastaa kuvia 23 ja esittää magneettiyksikön toimintaa kolmannessa vaiheessa.

Kuvio 26 vastaa kuvia 23 ja esittää magneettiyksikön toimintaa neljännessä vaiheessa.

Kuvio 27 esittää vielä erällä toisenlaisella suojakalvolla varustettua magneettiyksikön sovellusmuotoa sivulta pään nähtynä ja osittain leikattuna.

30 Kuvio 28 esittää kaaviosesti sivulta pään nähtynä ja leikattuna useita rinnakkaisia magneettiyksiköitä. Jollilla on yhteinen levymäinen suojakalvo.

Kuvio 29 vastaa kuvia 28 ja esittää rinnakkaisia magneettiyksiköitä toisen sovellusmuodon mukaisena.

35 Kuvio 30 vastaa kuvia 28 ja esittää rinnakkaisia magneettiyksiköitä kolmannen sovellusmuodon mukaisena.

Kuvio 31 vastaa kuvioita 28 ja esittää rinnakkaisia magneettiyksiköitä neljännen sovellusmuodon mukaisena.

Kuvio 32 kaaviollisesti päältä päin nähtynä rinnakkaisia magneettiyksiköitä, jotka on sijoitettu ympyrän muotoon.

5 Kuviolla 33-40 on esitelty esimerkkien avulla kaaviollisesti keksinnön erilaisia sovellusmuotoja.

PIIRUSTUSTEN YKSITYISKOHTAINEN SELOSTUS

Kuviossa 1A on esitelty keksinnön mukaisen magneettiyksikön 10 sovellusmuoto, johon kuuluu ferromagneettinen putki tai holkki 12, jonka sisällä on tankomainen kestomagneetti 13, jota liikutetaan tangon tai siirtotapin 11 välityksellä. Magneetin 13 ja tangon 11 välistä liittymäkohtaa on merkitty viitenumeroilla 14 ja putken 12 päässä olevaa aukkoa viitenumeroilla 15. Liikkuttamalla tankoa 11 ja sen sisällä olevaa putkea 12 aksiaalisesti toistensa suhteen, tankomainen magneetti 12 pää työntyy ulos putken 12 pään aukosta 15. Toinin sanoen tankoa 11 ja siihen liitettyä magneettia 13 voidaan liikuttaa putken 12 sisällä, tai putkea 12 voidaan liikuttaa, jolloin tanko 11 ja magneetti 13 pysyvät paikoillaan. Vaihtoehtoisesti myös molemmat osat 12 ja 13 voivat liikkua. Kaikilla näillä vaihtoehtoisilla tavoilla saadaan magneetti 13 työnnetyksi ulos putken 12 päässä olevasta aukosta 15 ja jälleen takaisin putken 12 sisään.

20 Kuviossa 1A tangon 11 halkaisija on suurempi kuin magneetin 13 halkaisija. Magneetti 13 on liitetty tankoon 11 siten, että magneetin 13 pää on työnnetty tangon 11 päässä olevaan koloon. Kolon ja magneetin 13 välillä on riittävästi tiukka sovite, joka pitää magneetin 13 ja tangon liittynä toisiinsa. Koska ferromagneettisen putken 12 sisähalkaisija on tässä 25 ratkaisussa suurempi kuin magneetin 13 halkaisija, niin joissakin tapauksissa se saattaa olla haitallista.

Kuvossa 1B on esitetty magneettiyksikön 10 toinen sovellusmuoto, jossa magneelin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuria. Magneetin 13 ja tangon 11 välisenä liitoselimenä on ohutseinäinen holkki 16, jonka sisään sekä tangon 11 että magneetin 13 päät on työnnetty. Ohutseinäisen holkin 16 sisähalkaisija on muodostettu sellaiseksi, että holkin 16 ja magneetin 13 välinen sovite sekä holkin 16 ja tangon 11 välinen sovite ovat riittävän tiukat pitämään nämä osat liitetynä toisiinsa. Koska holkki 16 on ohutseinäinen, niin magneelin 13 halkaisija voi olla lähes yhtä suuri kuin ferromagneettisen putken 12 35 sisähalkaisija.

Kuviossa 1C on esitetty magneettiyksikön 10 kolmas sovellusmuoto, jossa ferromagneettisen putken 12 pään suuaukko 16 on supistettu. Näin saadaan magneetin 13 ja putken 12 välis sopivaksi, vaikka putken 16 sisähalkaisija olisikin selvästi suurempi kuin magneetin 13 halkaisija.

5

Kuviossa 1D on esitetty magneettiyksikön 10 neljäs sovellusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 välinen liitos 14 on toteutettu liimalla. Tässä ratkaisussa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret, jolloin niiden ja putken 11 sisäpinnan väli voidaan tehdä sopivan pieneksi.

10

Kuviossa 1E on esitetty magneettiyksikön 10 viides sovellusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 liittäminen toisiinsa magneetin 13 oman magneettivoiman avulla siten, että magneetti 13 vetää tangon 11 riittävän tiukasti kiinni magneettiin 13. Ratkaisu toimii ainoastaan, jos tanko 11 on ferromagneettista materiaalia. Myös tässä ratkaisussa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret.

15

Kuviossa 1F on esitetty magneettiyksikön 10 kuudes sovellusmuoto, jossa tangon 11 päähän muodostettu uloke, joka on työnnetty magneetin 13 päähän muodostettuun koloon. Liitoskohdassa 14 ulokkeen ja kolon välinen sovite on tehty riittävän tiukaksi pitämään nämä osat liitettyinä toisiinsa.

20

Kuva 1G on esitetty magneettiyksikön 10 seitsemäs sovellusmuoto, jossa on kestomagneeliin asennusta sähkömagneelli. Tässä ratkaisussa tanko 11 on ferromagneettista materiaalia ja sen toisen pään ympärille on sijoitettu käämi 27, joka indusoii magneettikentän tankoon 11 silloin, kuin jännitelähde on kytketty käämiin 27. Näin ollen tanko 11 toimii sähkömagneettina, jolloin erillistä, siihen liitettyä kestomagneettia ei tarvita.

25

Kuviossa 2A on esitetty magneettiyksikön 10 sovellusmuoto, jossa magneetin 13 kiinnitystapa vastaa kuvion 1B ratkaisua eli magneetti 13 on liitetty tankoon 11 holkin avulla. Kuviossa 1B ei ollut kuitenkaan mainittu mitään magneetin magnetointisuunnasta. Kuvion 2A magneettiyksikössä 10 magneetin 13 magnetointisuunta on magneetin 13 pilusakselin suuntainen.

30

Kuviossa 2B esitetty magneettiyksikön 10 sovellusmuoto vastaa kuvion 2A ratkaisua muissa suhteissa, mutta magneetin 13 magnetointisuunta on poikittainen eli kohtisuoraan

magneelin 13 pituusakselia vastaan. Sekä kuviossa 2A että kuviossa 2B magneetti 13 voidaan kuitenkin liittää tankoon 11 myös millä muulla tavalla tahansa.

5 Kuvioissa 2C-2G on esitetty kaavollisesti magneettiyksikön 10 magneetin 13 aikaansaama magneettikenntä eri sovellutusmuodoissa.

10 Kuviossa 2C on esitetty magneettiyksikön 10 magneetti 13 on magnetolitu pituussuuntaisesti, kuten kuviossa 2A. Kuvion 2C esittämässä tilanteessa magneetin 13 toinen pää on osittain työnnetty pulkesta 12 ulos, jolloin sen magneettikenntä 17 ulottuu magneetin 13 kauimmaisesta päästä putken 12 päähän. Suurin magneettivuotihveys tällä ratkaisulla saadaan magneelin 13 vapaan pääri ympärillä, jolla alueella on kuviossa 2C merkitty viitenumeroilla 18. Kuvatulla ratkaisulla saadaan mikropartikkeliit kerääntymään pääosin vain magneelin 13 lähiin päähiin, jolloin kerällävän partikkelimassan määrä on rajoitettu.

15 Kuviossa 2D on esitetty magneettiyksikön 10 magneetin 13 magneettikenntä silloin, kuin magneetin 13 magnetointiakseli on poikkisuuntainen eli kuvion 2B mukainen. Tässä tapauksessa aikaansaatu magneettikenntä 19 on tasaisesti jakautuneena koko magneetin 13 yli, jolloin mikropartikkeliien keräyspinta on suurin mahdollinen.

20 Mikäli kuitenkin halutaan rajata magneettiyksikön 10 magnetin 13 keräyspintaa, niin magneetti 13 voidaan jättää osittain ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällainen tilanne on esitetty kuviossa 2E. Tällöin magneetin 13 keräyspinta 20 on icman pienempi kuin kuvion 2D esittämässä tilanteessa.

25 Kuvioissa 2F ja 2G on esitetty kaavollisesti polkkileikkaukset kahdesta eri tavalla polkittaan magnctoidusta magneettiyksikön 10 magneetista 13. Kuvossa 2F magneetti 13 on jaettu pituusakselin suuntaisella tasolla kahteen osaan. Kuvossa 2G magneetti 13 on jaettu vastaavasti neljään pituussuuntaiseen osaan. Kuvioista 2F ja 2G nähdään, että 30 magneettikenät ovat niissä erilaisia, koska magneettikenitäl sijoittuvat hieman eri tavoin. Kuitenkin molemmat ratkaisut ja kaikki niiden variaatiot ovat yhtä käytökelpoisia.

35 Kuviossa 3A on esitetty magneettiyksikkö 10 mikropartikkeleiden 22 keräämiseksi astiassa 26, kuten koeputkessa olevasta liuoksesta 23. Suojakalvolla 21 suojahtu magneetti 13 on kiinnitetty tankoon 11, joka ei ole ferromagneettinen. Kuvossa 3A magneetti 13 on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella niin, että magneetin 13 etäisyys nestepinnasta 25 on h. Kuvion 3A magneetti 13 on magnetoitu magneetin 13 pituusakselin

suuntaisesti. Mikropartikkeliit 22 kerääntyvät tällöin astiassa 26 olevasta liuoksesta 23 magneetin 13 kummankin naavan 24a ja 24b kohdalle suojakalvon 21 ulkopuolelle, sekä aivan suojakalvon 21 kärkiosaan että tangon 11 ja magneetin 13 liitoskohtaan 14. Tämä on normaali tilanne silloin kun magneetti 13 on kokonaan liuoksen 23 nestepinnan 25 alapuolella.

Kuviossa 3B on esitetty magneettiyksikön 10 toinen sovellusmuoto, johon myös kuuluu suojakalvolla 21 suojahtu magnetti 13, joka on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella etäisyydestä h nestepinnasta 25. Tämä sovellusmuoto vastaa kuvion 3A sovellusmuotoa muissa suhteissa, mutta magneetti 13 on magnetoitu poikittain. Kuviosta 3B nähdään, että mikropartikkeliit 22 kerääntyvät nyt suurelle alueelle suojakalvon 21 ulkopuolelle. Edullisinta olisi kuitenkin saada kaikki mikropartikkeliit 22 kerätyksi aivan magneettiyksikön 10 kärjen alaosaan. Se on erityisen edullista silloin, kun mikropartikkeliit 22 halutaan siirtää pieneen nestetilavuuteen. Kuviossa 3B mikropartikkeliit 22 eivät 15 keräänyt pienen alueelle elvätkä erityisesti suojakalvon 21 alaosan tuntumaan. Siksi tämä vaihtoehto ei ole erityisen edullinen silloin, kun halutaan konsentroida mikropartikkeleita 22 pieniin nestetilavuuksiin.

Kuviossa 4A on esitetty koeputkessa 26 olevaan liuokseen 23 sijoitettu magneettiyksikkö 20 sekä mikropartikkeliit 22 kerääntymisen magneettiyksikön 10 suojakalvolla 21 suojattujen magneettien 13 alaosan tuntumaan. Kuviossa 4A magneetti 13 ja molemmat magneettinavat 24a ja 24b ovat kokonaan nestepinnan 25 alapuolella. Mikropartikkeliit 25 eivät kuitenkaan keräänyt muualle kuin suojakalvon 21 alaosaan, koska magneetti 13 ylänapa 24b on onnistuttu oikosulkemaan viemällä ferromagneettisen putki 12 sopivasti magneettin 13 päälle. Magnetti 13 ylönavan 24b kohdalla ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella ei ole magneettikenttää, minkä vuoksi suojakalvon 21 ulkopuolella ei havaita mikropartikkaleja 22. Kuvatulla magneettiyksiköllä 10 voidaan konsentroida mikropartikkaleita 22 pieniin nestetilavuuksiin vaikka magneetti 13 on kokonaisuudessaan nestepinnan 25 alapuolella ja se on kiinnitettynä ferromagnetiiseen tankoon 11.

30 Kun kuvion 4A esittämässä tilanteessa magneetti 13 siirretään kokonaan ferromagneettien putken 12 sisään, niin magneetti 13 magneettikenttä polstuu lähes kokonaan. Mikropartikkeliit 22 voidaan näin vapauttaa suojakalvon 21 pinnalta yksinkertaisesti vain viemällä magneetti 13 kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisälle. Mikropartikkaleita 22 35 voidaan siirtää astioihin 26 toisiin suojakalvon 21 pinnalle sitoutuneena, jolloin magneetti 13 on sopivasti ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella.

Kuviossa 4B on esitetty magneettiyksikkö 10, joka vastaa kuvion 4A soveltuusmuolua muissa suhteissa, mutta magneetti on magnetoitu poikittain. Kuviossa 4B poikittaisuunnassa magnetoidun magneetin 13 magneettikenitää on pienennetty ferromagneettisen putken 12 avulla. Kuvion 4B esittämässä tilanteessa magneetti 13 on 5 enää hyvin vähän ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella. Kuviossa 4B nähdään, että poikittaisuuntainen magnetoitulla pitkällä magneetilla 13 ja suojaputkella 12 voidaan yksinkertaisesti konsentroida mikropartikkeli 22 aivan suojakalvon 21 alaosan. Näin ollen molemmissa kuvioissa 4A ja 4B on esitetty edulliset ja tehokkaat menetelmät ja laitteet mikropartikkeleiden käsittelemiseksi pienissä nestetilavuuksissa.

10 Kuvioissa 5A-5C on esitetty vaihtain mikropartikkeli 22 kerääminen venymälünnillä suojaalvolla varustetun magneettiyksikön 10 avulla liuoksesta 23. Magneetti 13 ja ferromagneettinen putki 12 ovat liikuteltavissa toistensa suhteen aksiaalisesti ja magneetti 13 on magnetoitu sen pituusakselin suuntaisesti.

15 Kuvioissa 5A-5E on esitetty myös erilaisia tapoja konsentroida mikropartikkeli 22 ferromagneettisen putken 12 ja magneetin 13 avulla aivan suojakalvon 21 alaosaan ja vapauttaa ne esimerkiksi pieniin nestetilavuuksiin.

20 Kuviossa 5A on esitelty magneettiyksikkö 10, jonka magneetti 13 on työnnetty ulos el-ferromagneettisen tangon 11 avulla ferromagneettisesta putkesta 12, jolloin magneetin 13 magneettikenitää on pääyksissä suojakalvon 21 alaosassa. Tällöin myös mikropartikkeli 22 keräyytää suojakalvon 21 alaosan. Myöskään seuraavissa esimerkeissä magneettia liikkuttava lanku 11 ei ole ferromagneettinen.

25 Kuviossa 5B on esitelty kuvion 5A magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on toisessa asennossa. Kuviossa 5B magneetti 13 on siirretty lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään putken pysyessä paikallaan. Tällöin osa mikropartikkeleista 22 siirtyy liuoksessa 23 suojakalvoa 21 pitkin ylöspäin.

30 Kuviossa 5C on esitetty kuvion 5B magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisään, jolloin mikropartikkeli 22 ovat hajaantuneet liuokseen 23. Noin ollen magneettikenttä ei silloin, kun magneettila 13 liikutetaan suojakalvon 21 alaosasta ylöspäin, ole paras mahdollinen keräämään mikropartikkeleita 22 suojakalvon 35 21 sivuosaan. Se johtuu magneetin 13 magneettikentän ja sen magneettinapojen sijainnista ja vetovoimasta käytettävän suojakalvon 21 suhteen. Näin ollen tämä vaihtoehto on mahdollinen, muttei edullisin mikropartikkeliin intottamiseen suojakalvon 21 pinnalta.

Opiinvoimalla mikropartikkeliit 22 ja magneetin 13 liikenopeus ylöspäin voidaan kuitenkin saavuttaa hyvä lopputulos, eli mikropartikkeliit jäävät sivun suojakalvon 21 alaosan tuntumaan:

- 5 Kuviossa 5D on esitetty vaihtoehtoinen ja tehokas tapa irrottaa mikropartikkeliit 22 hallitusti kuvion 5A magnettihiksikön 10 suojakalvon 21 alaosasta esimerkiksi pieniin tilavuuksiin. Kuviossa 5B esitetyn magneetin 13 ylöspäin tapahtuvan liikkeen asemesta kuviossa 5D liikutetaankin nyt ferromagneettista putkea 12 alas päin. Kuviosta nähdään, että tällöin mikropartikkeliit 22 eivät siirry suojakalvoa 21 pilkin ylöspäin.

10 Kuviossa 5E on esitetty kuvion 5D magnettihiksikkö 10 sileni, sillä ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Kuviosta nähdään, että tällöin mikropartikkeliit 22 -jävääl liuoksessa 23 paremmin paikoilleen koeputken 26 alaosan magnettihiksikön 10 pään läheisyyteen.

15 Kumpikaan kuvioissa 5B-5C tai kuvioissa 5d-5E esityistä tavoista ei kuitenkaan ole erityisen edullinen erittäin suurten mikropartikkelimassojen keräämiseen ja käsittelyyn.

- 20 Kuvioissa 6A-6E on esitetty vaihteettain mikropartikkeliit 22 kerääminen venymättömällä suojakalvolla 21 varustetun magnettihiksikön 10 avulla, jossa magneetti 13 tai ferromagneettista putkea 12 liikutetaan ja kun magneetti 13 on magnetoitu poikittain.

25 Kuviossa 6A on esitetty magnettihiksikkö 10, jonka poikittaissuunnassa magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisen putkesta 12, joka peltää ainoastaan pienin osan magneetista 13. Tällöin mikropartikkeliit 22 keräytyvä magnettihiksikön 10 suojakalvon 21 ulkopuolelle.

30 Kuviossa 6B on esitetty kuvion 6A magnettihiksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 12 on siirretty ylöspäin lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällöin suurin osa suojakalvon 21 alaosassa olevista mikropartikkleista 22 siirtyy magneetin 13 mukana ylöspäin.

- 35 Kuviossa 6C on esitetty kuvion 6B magnettihiksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisällä. Tällöin mikropartikkeliit 22 vapautuvat ympäröivään liukseen 23. Näin ollen tämä tapa ei sovi mikropartikkeliit 22 konsentroimiseen suojakalvon 21 alaosaan ja siirtämiseen esimerkiksi pieneen nestetilavuuteen.

Kuviossa 6D on esitetty kuvion 6A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on siirretty alas päin lähes kokonaan magneetin 13 pääälle. Mikropartikkelit 22 liikkuvat samalla putken 12 mukana sopivasti alas päin.

5

Kuviossa 6E on esitetty kuvion 6D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 peittää magneetin 13 kokonaan. Kuviosta nähdään, että tällä tavoin mikropartikkkelit 22 voidaan tehokkaasti konsentroida magneettiysikön 10 suojakalvon 21 alaosan tuntumaan. Näin ollen tämä ratkaisu sopii hyvin sekä suurten 10 mikropartikkelimäärien keräämiseen että mikropartikkelien konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.

Kuvioissa 7A-7E on esitetty vaiheittain mikropartikkelien 22 kerääminen venyvalla suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko 15 magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu pituussuuntaisesti.

Kuviossa 7A on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa pituussuuntaisesti magnetoitu 20 magneelli 13 on työnnetty ulos ferromagneettisesta pulkesla 12 niin, että se samalla venyttää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkelit 22 keräätyvät magneetin 13 päään läheisyyteen venytelyn suojakalvon 21 alaosaan. Suojakalvon 21 venymisen johdosta suojakalvon 21 paksuus on samalla pienentynyt, jolloin magneettikenttä on 25 säännällä kasvanut suojakalvon 21 ulheremisen myötä.

25 Kuviossa 7B on esitetty kuvion 7A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneettia 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Samanaikaisesti myös venytetty suojakalvo 21 palautuu ylöspäin. Tästä seuraa se, että ylöspäin liikkuvan suojakalvon 21 alaosan kohdistaan edelleen riittävä magneettikenttä pitämään mikropartikkelit 22 kerääntyneenä suojakalvon 21 päälle.

30

Kuviossa 7C on esitetty kuvion 7B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisälle ja mikropartikkelit 22 ovat vapautuneet magneettikentästä. Tällä tavalla mikropartikkelit 22 voidaan hyvin konsentroida suojakalvon 21 alaosaan ja siirtää edelleen pieneen nestetilavuuteen.

35

Kuviossa 7D on esitetty kuvion 7A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on liikutettu alas päin magneetin 13 päälle. Magneetti 13 ei

liiku vaan pitää suojakalvon 21 edelleen venytettynä. Magneettikenttä on suojakalvon venytyksestä johtuen erittäin suuri ja mikropartikkeliit 22 pysyyväät erittäin hyvin kunnii suojakalvossa 21.

- 5 Kuviossa 7E on esitetty kuvion 7D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagnettinen putki 12 on siiрretty kokonaan magneetin 13 päalle. Tällöin magneettikenttä poistuu ja mikropartikkeliit 22 vapautuvat nesteeseen 23. Tämä tapa soveltuu erittäin hyvin konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.
- 10 Kuvioissa 8A-8E on esitetty vaihcittain mikropartikkeliien 22 kerääminen venyvällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko magnettia 13 tai ferromagnettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu poikittain.
- 15 Kuviossa 8A on esitetty magneettiykeikkö 10, jossa poikittaissuuntainen magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisen putken 12 niin, että se samalla venytää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkeliit 22 keräytyvät magnettilla 13 venytelyllä suojakalvon 21 ympärille erittäin suurelle alueelle.
- 20 Kuviossa 8B on esitetty on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneettia 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Kun magneetti 13 liikutetaan ylöspäin, niin venytetty suojakalvo 21 palautuu samalla alkuperäiseen muotoonsa eli magneetin 13 mukana ylöspäin. Mikropartikkeliit 22 liikkuvat mukana ja koko mikropartikkelimassa voidaan konsentroida pienelle alueelle suojakalvon 21 kärkiosaan.
- 25 Kuviossa 8C on esitetty on esitetty kuvion 8B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan ferromagneettisen putken 12-sisälle.-Tällöin mikropartikkeliit 22 vapautuvat magneettikenttää liuokseen 23.
- 30 Kuviossa 8D on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagnettista putkea 12 on liikutettu alas päin magneetin 13 päälle. Mikropartikkeliit 22 voidaan tässä, kuten kuvioissa 8B ja 8C kerätä suuresta näytetilavuudesta ja konsentroida pienelle alueelle suojakalvon kärkiosaan.
- 35 Kuviossa 8E on esitetty on esitetty kuvion 8D magneettiyksikko 10 asennossa, jossa ferromagnettinen putki 12 on siiрretty kokonaan magnettin 13 päälle. Tällöin magneettikenttä poistuu ja mikropartikkeliit 22 vapautuvat magneettikenttää liuokseen 23.

Kuvioissa 9A-9G on esitelty vaiheittain magneettiyksikköön 10 käyttömenetelmä suuren mikropartikkelimassan keräämiseksi suuresta nestetilavuudesta ja mikropartikkeliens konsentroimisen pienen tilavuuteen.

5 Kuvossa 9A on esitetty astia 26a, jossa mikropartikkeliit 22 ovat nesteessä 23 suressa tilavuudessa.

10 Kuvossa 9B on esitetty eksinhön mukainen magneettiyksikkö 10, joka on sijoitettu kuvion 9A astiaan 26. Magneettiyksikköön 10 avulla mikropartikkeliit 22 siirretään liuoksesta 23a magneettiyksikköön 10 suojakalvon 21 pinnalle. Kuvion 9B magneettiyksikössä 10 on venymättömällä suojakalvolla 21 suojattu magneetti 13, joka on magnetoitu poikittain. Tällaisella magneettiyksikköllä 10 mikropartikkeliit 22 saadaan kerättyksi suurelle alueelle suojakalvon 21 pinnalle.

15 Kuvossa 9C on esitelty loiriastia 26b, jossa on pieni tilavuus nestettä 23b. Tähän astiaan 26b siirretään kuvion 9A astiasta 26a magneettiyksikköllä 10 kerättyt mikropartikkeliit 22. Kuvossa 9C esitetty astia 26b on mitoiltaan ja nestetilavuudeltaan sopivasti valillu käytettäväksi esitetyn magneettiyksikköön 10 kanssa.

20 Kuvioissa 9D-9F on esitetty vaiheittain suuresta tilavuudesta kerättyjen mikropartikkeliens 22 vapauttamisprosessi pienen tilavuuteen.

25 Kuvossa 9D on esitetty astiaan 26b upotettu magneettiyksikkö 10. Tällöin on saavutettu se tavoite, jonka mukaan upotettaessa magneettiyksikkö 10 nesteeseen 23b pieniin nestetilavuuden nestepintaan saadaan sopivasti nostetuksi yli sen rajan, johon ylimmällään mikropartikkeli 22 on kerätty kuvion 9B esittämästä suuresta astiasta 26a. Menetelmässä käytetään hyväksi sitä, että nesteeseen upotettuna kappale syrjäytyää tilavuutensa verran nestettä. Kun käytetään sopivan mallista ja muotoista astiasta sekä siihen kooltaan ja muodoltaan sopivaa magneettiyksikköä, niin nesteen pinta astiassa 30 nousee juuri halutulle korkeudelle. Olennalista tällöin on se, että partikkeliit jäävät nestepinnan alapuolelle.

35 Kuvossa 9E on esitetty kuvion 9D magneettiyksikkö 10 tilanteessa, jossa ferromagneettista putkea 12 lilkutetaan alaspin. Tällöin mikropartikkeliit 22 vapautuvat suojakalvon 21 pinnalta ylhäältä lähtien alaspin.

Kuviossa 9F on esitelty kuvion 9E magneettiyksikkö 10 seuraavassa tilanteessa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle ja putken 12 ulkopuolella ei enää ole magneettikenttää päämäään mikropartikkelleita 22 kiinni suojakalvon 21 pinnalla. Mikropartikkeliit 22 on nyt kokonaan vapautettu ympäröivään 5 nesteeseen 23b.

Kuviossa 9G on esitetty tilanne, jossa magneettiyksikkö 10 on siirretty pois astiasta 26b, jolloin nesteepinta on laskenut takaisin lähtötilanteeseen. Toimenpiteen lopputuloksena suuri mikropartikkeliinässä on vuilu siirtää tehokkaasti ja yksinkertaisesti pieneen 10 tilavuuteen, kuten on esitetty kuviossa 9G. Tästä voidaan jatkaa konsentraantia edellä esitetyyn tapaan tai edellisissä kuvioissa esitettyjä menetelmiä käyttäen. Mikropartikkeliin 22 siirtoja ja konsentraointivaiheita voidaan tehdä sopivasti riittävän mukaisesti.

Kuviossa 10 on esitetty esimerkki käsin käytettävästä, keksinnön mukaisesta 15 mikropartikkeliin siirtolaitteesta 30. Siirtolaitteeseen 30 kuuluu runkoputki 31, sen jatkeena oleva soviteholki 32 ja keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10 siirtolaitteen päälle. Magneettiyksikössä 10 on magneetti 13, tanko tai siirtolappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja venyvä tai jäykkä suojakalvo 21 painettuna soviteholkin 32 päälle.

20 Magneettiyksikön 10 magneettia 13 liikuttava ei-ferromagneettinen tanko 11 ulottuu siirtolaitteen 30 yläosaan asti, jossa se on liitetty magneelin siirtolustiin 37. Tätä siirtolustia 37 liikutetaan käsin magneetinsiirtotapin 38 avulla, joka työntyy runkoputken 31 seinästä ulos pitkänomaisen aukon 39 kautta. Magneetinsiirtotappia 38 voidaan työntää ylöspäin ja alas päin aukossa 39, jolloin siirtolusti 37 ja sen mukana myös tanko 11 ja 25 magneetti 13 liikkuvat ylöspäin ja alas päin.

Edelleen mikropartikkeliin siirtolaitteessa 30 on myös mekanismi ferromagneettisen putken 12 liikkutamiseksi aksiaalisuunnassa. Mekanismiin kuuluu putken siirtoyksikkö 34 ja putken siirtotappi 35, joka myös työntyy runkoputken 31 läpi toisesta pitkänomaisesta 30 aukosta 36. Myös putkensiirtotappia 35 voidaan työntää ylöspäin ja alas päin aukossa 36, jolloin putken siirtoyksikkö 34 ja samalla myös ferromagneettisen putken 12 liikkuvat ylöspäin ja alas päin.

35 Mikropartikkeliin siirtolaitetta 30 pidetään kädessä siten, että sormella voidaan helposti liikuttaa sekä magneetinsiirtotappia 38 että putkensiirtotappia 35.

Kuviossa 11 on esiteltty eräs esimerkki käsiräjästä käytettävästä mikropartikkellen monikanavasiirtolaitteesta 40, jonka magneettiyksikköryhmään 41 kuuluu kahdeksan keksinnön mukaisista magneettiyksikköistä 10. Magneettiyksikköryhmän 41 magneettiyksiköt 10 sijaitsevat rivissä. Jokaisessa magneettiyksikössä 10 on magneetti 13, siirtotappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja suojakalvo 21. Kuvion 11 esittämässä esimerkissä ei ole esitetty mekanismia magneettiyksiköiden 10 ferromagneettisten putkien 12 liikuttamiseksi ylöspäin ja alas päin, kuten edellisessä esimerkissä. Kuvossa on esiteltty esimerkin vuoksi ainoastaan yksinkertainen mekanismi magneettiyksikköiden 10 kaikkien kahdeksan magneettien 13 liikuttamiseksi samanaikaisesti.

Kuviossa 11 magneettiyksikköiden 10 magneettien 13 mekanismiin kuuluu yhdystanko 43, johon kaikkien magneettien 13 tangot 11 on liitetty. Monikanavasiirtolaitteen 40 magneetteja 13 liikutetaan alas päin ja ulos ferromagneettisista putkista 12 palnamalla sormella osittain siirtolaitteen ulkopuolella olevasta "liipasimesta" 46, joka on välitangon 45 välityksellä liitetty magneettien 13 yhdystankoon 43. Magneetit 13 palautuvat takaisin yläasentoonsa yhdystankoon 43 liitettyjen palautusjousien 44 avulla.

Erään mikropartikkeliin monikanavasiirtolaitteen 40 sovellutusmuodon mukaan kaikki magneetit samanaikaisesti, vaan että tarvittaessa voidaan lukita osa magneeteista 13 haluttuun asentoon. Lisäksi eri magneettiyksikköissä 10 voi olla mekanismi, jonka avulla myös ferromagneettisia putkia voidaan liikuttaa ylöspäin ja alas päin.

Kuviossa 12 on esiteltty mikropartikkeliin siirtolaiteautomaatti 50, jossa on keksinnön mukaisla magneettiyksikköitä rivissä tai kuviossa 12 esitetyn mukaisessa $n \times m$ matriisissa 51. Magneettiyksiköt 10 ovat kiinni kontrolliyksikköitä 52, joissa on tarvittava mekanikka magneettien etäferromagneettisten putkien siirtämiseen pystysuunnassa. Kontrolliyksikkö 52 voi sekä liikkua ylöspäin ja alas päin nuolen 54 suunnassa ja/tai nuolen 53 mukaisesti sivusuunnassa. Magneettiyksikköiden alle tason 57 päälle sijoitetaan näytelevy 55 joko manuaalisesti tai laboratorirobotin avulla. Näytelevyssä 55 on näytetekniikka joko yhdessä rivissä tai matriisissa 56 kuten kuviossa 12 nähdään.. Automaattiuun 50 kuuluu vielä toinen kontrolliyksikkö 58, joka hoitaa siirtologiikan ja sisältää kaiken tarvittavan elektronikan automaatin toimilaitteiden ohjaamiseksi ja vuorovaikuluksen hoitaminiseksi muiden laboratoriolaitteiden kanssa.

Kuviossa 13 on esiteltty eräs keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10, jossa on poikittain magnetoitu magneetti 13 ja ferrometalliputki tai holkki 12, joka on aksiaalisuunnassa siirtettävissä magneetin 13 päälle. Magneettia 13 suojaaa suojakalvo 21, joka voi olla

venyvää tai kovaa materiaalia, edullisimmin muovia tai silikonikumaria. Lisäksi magneettiyksikköön 10 kuuluu kiinnityslipulla 33 ja pyöritysakseli 28, jonka avulla magneettiyksikön 10 sisällä olevaa magneettia 13 ja suojakalvua 21 voidaan pyörittää pituusakseliensa ympäri.

5

Kuviossa 14 on esitetty keksinnön mukainen reaktoriastia 61, jossa on venttiileillä 63 varustettuja kanavia 62. Reaktoriastiassa 61 on prosessissa tarvittava neste 23. Reaktoriastia 61 ja kuvissa 13 esitetty magneettiyksikkö 10 muodostavat yhdessä reaktoriyksikön 60, kuten kuvossa 15 on esitetty.

10

Kuviossa 15 on keksinnön mukainen reaktoriyksikkö 60, jossa olevaan reaktoriastiaan 61 on sijoitettu prosessissa tarvittava liuos 23, jossa on esimerkiksi kasvatusmediumi, näyte, puskuriliuos ja magneettipartikkoleita 22, kuten mikropartikkaleita. Sen jälkeen reaktoriastia 61 on liitetty magneettiyksikön 10 kiinnityslipullaan 33. Reaktoriin 60 voidaan tarpeen mukaan lisätä vielä ainetta, kuten sopivia liuoksia ja magneettipartikkaleita tai poistaa nestetä reaktoriastiaan liitettyjen kanavien 62 kautta, joissa on venttiilit 63. Kanavat 62 tai vastaavat sisääntulot voivat sijaita reaktioastian sivuilla tai päässä ja niitä voi olla useampla ja eri puolilla reaktoriyksikköä. Kanavien 62 avulla voidaan kontrolloida esimerkiksi reaktioyksikön 60 sisällä olevia kaasuja, pH arvoa ja suolapitoisuutta.

15

Sisääntulukanavien 62 kautta voidaan reaktioyksikköön 60 tuoda myös lisää näytettä ja/tai viedä reaktioyksikön 60 sisällä ollutta näytettä pois. Näissä sisääntuloissa voi olla sopia suodattimia, joilla sisään tuotava kaasu tai liuus voidaan myös pitää sterilinä. Kuvossa 15 magneettipartikkaleita 22 on kerääntynyt suojakalvon 21 pinnalle.

25

Kuviossa 16 on esitetty kuvion 15 reaktoriyksikkö 60 vaaka-asennossa. Jos reaktoriyksikköä 60 pidetään kyljellään tässä asennuksessa ja magneettiyksikön 10 magneettia 13 ja suojakalvua 21 pyöritetään suhteessa magneettiyksikön 10 suojaureen, niin reaktoriyksikön 60 sisällä olevalla nestelle 23 aikaansaadaan tehokas sekoitus. Tällöin myös magneettipartikelit sekoittuvat nesteseen. Reaktoriyksikön 60 sisällä olevan nestepinnan 25 korkeutta voidaan säätää ja optimoida käytettäväksi soveltuksen mukaan.

30

Reaktoryksikossa 60 olevan nesteen 23 sekoituksen tehostamiseksi magneetti 13 suojakalvo 21 voidaan varustaa sopivilla siivekkeillä. Suojakalvon 21 ja siivekkien pyörässä reaktoriastiassa 61 oleva neste 23 saadaan liikkumaan ja sekoittumaan tehokkaasti. Siivekkien asemesta suojakalvon 21 pintaan voidaan myös muotoilla eri

tavoin. Suojakalvossa 21 voi olla myös sopiva muotoilu sen kärkiosassa 64, joka tällöin kannattaa magneettiyksikköä sen ollessa vaakasuunnassa kyljellään.

Käytettävässä prosessissa magneettipartikkelit voivat olla valmiiksi kiinni magneetin 13 suojakalvossa 21 tai ne voidaan sopivasti prosessin aikana kiinnittää siihen.

5 Magneettipartikkeliens keräys ja irrotus suojaalvoita 21 toteutetaan keksinnön mukaan ferromagneettisen holkin 12 avulla, jota siirretään piluussuunnassa magneetin 13 päälle tai pois päältä. Esityyssä sovellutusmuodossa käytettävä magneetti 13 on poikittaisessauntainen magnetointu magneetti. Tällöin olennaista on se, että 10 magneettipartikkelit voidaan kerätä reaktioryksikössä 60 suurelle pinnalle suojaalvon 21 ympärille.

Magneettipartikkeliens ollessa kiinni suojaalvossa 21 on välineessä erittäin paljon aktiivista 15 pintaa esimerkiksi proteiinien, solujen, DNA:n tai bakteerien keräämiseksi reaktioastiassa 61 olevasta liuoksesta 23. Sekoittamalla liuosta saadaan käsiteltävä liuos kulkeamaan suojaalvossa 21 ilin olevien magneettipartikkeliens lomitse siten, että halutut komponentit tarttuvat magneettipartikkeliin. Reaktioryksikössä 60 on myös mahdollista välillä vapauttaa magneettipartikkelit liuokseen keksinnössä kuvatulla tavalla ja poimia 20 magneettipartikkelit jälleen liuoksesta suojaalvon 21 pinnalle.

20 Kuvio 17 esittää keksinnön mukaista olosuhdekaappia 70, johon voidaan sijoittaa useita reaktioryksiköitä 60 samanaikaisesti. Olosuhdekaapin 70 liitetyn moottorin 71 ja käyttölaitteen 72 avulla voidaan samanaikaisesti pyörittää useiden reaktioryksiköiden 60 sisällä olevia magneetteja 13 ja suojaalvoja 21. Olosuhdekaapissa 70 voidaan säädellä 25 muun muassa sen lämpötilaa, magneettien ja niiden suojaalvojen pyöritysnopeutta, kaasujen vaihtoa reaktioryksiköiden sisällä, riäyllesnottoa reaktioryksiköistä sekä näytteen tai liuosten lisäyksiä reaktioryksikköihin.

Tällainen ratkaisu on erityisen hyödyllinen mikrobiologisessa laaduntarkkailussa, jolloin 30 reaktioryksiköissä 60 voidaan kasvattaa esimerkiksi patogenisia bakteereja. Sopivan ajari kuluttua reaktioryksiköt 60 otetaan pois olosuhdekaapistä 70. Tällöin magneettipartikkelit ovat magneettiyksikössä 10 kerättynä suojaalvon 21 pinnalle. Reaktorin 60 magneettiyksikko 10 irrotetaan reaktioastiasta 61, jonka jälkeen magneettipartikkelit voidaan esimerkiksi pestä ja konsentroida erillisissä astioissa. Irrotettuun reaktioryksiköihin 35 jäää kaikki muu paitsi magneettipartikkelit. Laitteistolla voidaan käsitellä erittäin suuria nestetilavuuksia.

Kuviossa 18 on esitetty koeputki 26 (engl. tube), jossa on supivaa neslettä 23, kuten pesunestettä. Reaktorista 60 irroteltu magneettihiksikkö 10 viedään koeputkeen 26 kuvion 19 esittämällä tavalla. Magneettipartikkelit 22 ovat lällöin vielä kerääntyneinä suojakalvon 21 pinnalle. Tässä tilanteessa liuoksen 23 nestepinnan 25 on oltava suojakalvon 21 pinnalla olevien magneettipartikkelienv 22 silouluomisalueen yläpuolella niin, että magneettipartikkelit 22 ovat nestepinnan 25 alapuolella.

Kuviossa 20 on esitetty tilanne, jossa magneettihiksikön 10 ferromagneettista holkkia 12 liikutetaan kuvossa alas päin. Kuviosta 20 nähdään, että ferromagneettinen holkki 12 on jo 10 osittain magneetin 13 pääillä. Ferromagneettisen holkin 12 siirtyminen magneetin 13 pääille aikaansaamalla magneettikentän poistumisen siltä kohdalta, jolloin osa magneettipartikkeleista 22a vapautuu suojakalvon 21 pinnalta ylhäältä lähtien. Siinä kohdassa, jossa ferromagneettinen holkki 12 ei vielä ole magneetin 13 pääillä magneettikenelle pilää toista osaa magneettipartikkaleita 22b edelleen kiinni suojakalvon 21 pinnalla.

Kuviossa 21 ferromagneettinen holkki 12 on siirretty ja kokonaan magneetin 13 päälle. Tällöin ferromagneettinen holkki 12 on aikaansaanut magneettikentän poistumisen kokonaan, jolloin kaikki magneettipartikkelit 22 ovat vapautuneet suojakalvon 21 pinnalta liuokseen 23.

Kuviossa 22 magneettihiksikkö 10 on poistettu koepulkeesta 26, jolloin magneettipartikkelit 22 ja niihin siloutuneet komponentit, kuten esimerkiksi bakteerit on saatu konsentroituva reaktiohiksikön 60 ulkopuoliseen koepulkeeseen 26. Samaa magneettihiksikköä 10 käytetään vuodan nyt jalkaa näille prosessuunlia pienemmissä tilavuuksissa siten, että 25 ferromagneettisella holkilla 12 rajoitetaan magneettipartikkelienv 22 silomisalue aivan suojakalvon 21 kärkiosaan. Koepulkesta 26 voidaan kerätä magneettipartikkeli 22 seuraaviin koeputkiin ja esimerkiksi pestä niitä tarvittava määrä.

On myös mahdollista eristää reaktiohiksiköstä 60 kerättyjen bakteerien DNA, RNA, proteiini 30 tai pinta-antigeeni niille erikseen tarkoitetuilla reagensseilla. Bakteeril on yleensä hajotettava erilaisilla laitteilla ja/tai reagensseilla ennen jatkoanalyysejä. Hajotuksen jälkeen voidaan lisätä seuraavat, silomisominaisuusiltaan erilaiset, magneettipartikkkelit edellä aikaansaatuun bakterilysaattiin. Uuden ominaisuuden sisältävien magneettipartikkelienv avulla kerätään esimerkiksi haluttu bakteerin proteiini, ariligeeni, 35 DNA, rRNA, RNA tai mRNA bakterilysaatista. Reaktiohiksikössä 60 bakteerien keräykseen tarkoitettut magneettipartikkelit 22 on voitu poistaa ennen kuin uusia ominaisuuksia sisältäviä magneettipartikkaleita on otettu käyttöön prosessissa.

Keksinnössä kuvattua menetelmää käytäen voidaan edellä mainittuja komponentteja eristää, pestää ja vapauttaa varsinaista analyysia varten. Analyysimetodeina voi olla esimerkiksi PCR-amplifikaatio tai ELISA-määritys. Kuvatun kaltaisessa reaktoriastiaessa 61 voidaan kasvallaa sekä aerobisia että anaerobisia mikro-organismeja.

Kuviossa 23 on esitelly magneettiyksikkö 10, johon kuuluu polkisuuntalestei magnetoitu magneetti 13, ferromagneettinen holki 12 ja jonka suojakalvo 21, jonka ulkopinnassa on harjanteita 29. Harjanteiden 29 välillä jää syvennyksiä, joihin mikropartikkkelit 22 kerääntyvät, ja joiden avulla saadaan varmistettua sekä suuren mikropartikkelimäärän luotettava kerääminen isolle pinnalle etä niiden siirtäminen astiasla luoseen.

Kuviossa 24 on esitetty kuvion 23 magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on työnnetty kokonaan ulos ferromagneettisesta holkista 12. Tällöin poikittain magnetoitu magneetti 13 kerää mikropartikkeleita 22 suojakalvolle 21 koko magneetin pituudella. Magneettia 13 ulos työnnettäessä suojakalvo 21 venyy samalla niin, että harjanteiden 29 välillä muodostuu suuret syvennykset tai taskut. Mikropartikkkelit 22 jäävät näihin taskuihin niin, että ne ovat helpoja pitää paikoillaan magneettiyksikköä 10 nostettaessa. Magneettiyksikön 10 liikkoon aihtuttamat nestevirtaukset ja pinnan läpäisyyn aiheuttama nestejännityksen häiritsevä vaikutus eivät irrota mikropartikkeleita 22 taskuista.

Kuvossa 25 on esitetty tilanne, jossa magneetti 13 on työntyneenä kokonaan ulos ferromagneettisesta holkista 12 ja samalla myös ferromagneettinen holki 12 työnnetään kokonaan ulos. Tällöin magneetin 13 päälle työnnetty ferromagneettinen holki 12 kumoaan magneetin 13 magneettivoiman ja mikropartikkkelit 22 irtoavat suojakalvoesta ja siirtyvät takaisin nesteesseen.

Kuviossa 26 on laus esitelly tilanne, jossa vain ferromagneettinen holki 12 on työntyneenä kokonaan ulos. Tällöinkään ei magneetilla 13 ole magneettivoimaa, joten mikropartikkkelit 22 eivät keräänty suojakalvon 21 pinnalle. Tätä kuvion 26 esillämää vaihetta voidaan sen sijaan käyttää vuorotellen kuvion 23 vaiheen kanssa, jolloin nesteesseen aikaansaadaan tehokkaasti sekoittava pumpausvaikulus. Luonnollisesti myös kuvioiden 24 ja 25 vaiheita voidaan käyttää vuorotellen eli magneetin 13 ollessa työntyneenä kokonaan ulos liikuleltaan vain ferromagneettisla holkkia 12 edestakaisin. Myös näin saadaan sekoittava pumpausvaiketus nesteesseen.

Kuviossa 27 on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa on pitkittäin magnetoitu magneelli 13, terommagneettinen holki 12 ja suojakalvo 21, jonka päässä on tasku 12 mikropartikkeliita 22 varten. Tällaisella rakenteella saadaan myös kerättyä suuri määrä mikropartikkelia 22, jotka elvät helposti irtoa suojakalvon 21 pinnasta siemon aikana.

5

Kuviossa 28 on esitetty useita rinnakkaisia magneettiyksiköitä 10, joilla on yhteinen levymäinen suojakalvo 21. Suojakalvo 21 on venyvä materiaalia, jolloin samalla kalvoa voidaan käyttää yhteenä viereisten magneettiyksiköitä 10 varten. Kalvo otetaan edullisimmin rullata, jolloin se on myös helposti vaihdettavissa.

10

Kuviossa 29 on esitetty kaksi rinnakkalista magneettiyksikköä 10a ja 10b, joilla on yhteinen suojakalvo 21. Kuvion 29 esimerkkilaitteessa magneettiyksiköiden 10a ja 10b toiminta on eri vaiheissa. Molempien magneettiyksiköiden 10a ja 10b ferrometalliholkit 12a ja 12b ovat painuneina suojakalvoa 21 vasten siten, että suojakalvo 21 painuu mikrolevyn kaivojen reunoihin vasten sulkien ja tiivistää kaivot kalvolla. Magneettiyksikön 10b magneetti on lisäksi työnnetty alaspin kohti mikrolevyn kaivoa niin, että suojakalvo 21 ja sen sisällä oleva magneetti 13b pääsee nousemaan 23. Tällöin nesteessä 23 olevat mikropartikkelit 22 kerääntyvät polkittain magnetoidun magneettin 13b päähän suojakalvon 21 pinnalle.

20

Kuviossa 30 on esitelty sovellusmuoto, jossa magneettiyksiköillä 10a ja 10b ei ole erillisiä ferrometalliholkkeja. Ne on korvattu ferrometallilevyllä 12, joka on muotoiltu siten, että mikrolevyn kaivojen kohdalla siinä on alaspin suurimalul ulukkeet. Magneetit 13a ja 13b on sijoitettu ferrometallilevyn 12 ulokkeiden kohdalla oleviin aukkoihin. Kuviossa 30 magneettiyksiköiden 10a ja 10b magneetit 13a ja 13b ovat samalla tavoin eri vaiheissa kuin kuviossa 29.

25

Kuviossa 31 on esitetty sovellusmuoto, jossa magneettiyksiköillä 10a ja 10b on myös yhteinen holki korvaava ferrometallilevy 12, joka lässä lajauksessa on suora levy. Magneetit 13a ja 13b on sijoitettu ferrometallilevyn 12 aukkoihin. Tässäkin kuviossa magneettiyksiköiden 10a ja 10b magneetit 13a ja 13b ovat eri vaiheissa. Kuvion 29 ratkaisusta poiketen suojakalvo 21 on painettu mikrolevyn kaivojen reunoihin vasten magneettien 13a ja 13b avulla eikä ferrometalliholkkien avulla. Magneettiyksikön 10a magneetti 13a on tiivistysasennossa kun laas toisen magneettiyksikön 10b magneetti 13b on mikropartikkeli 22 keräysasennossa.

35

Kuviossa 32 on esitetty monikanavaisiirtolaite 40, jossa magneettiyksiköt 10 on sijoitettu ympyrän muotoon. Tällainen laite on edullinen silloin kun mikropartikkeliita on kerättävä

suuresta tilavuudesta. Magneettiyksiköillä 10 voi olla julkisella erillinen suojakalvo, mutta toisen sovellusmuodon mukaan kaikkien magneettiyksiköiden 10 kohdalla on yksi yhteinen suojakalvo.

- 5 Kuviossa 33 on esitetty sovellusmuoto, jossa astiassa olevat magneettipartikkelit haetaan magneettiyksiköllä, jossa on elastomeeristä materiaalista (kuten esimerkiksi silikonikumi) valmistettu suojakalvo. Magneettivälleen sisällä on paikittain magnetoitu magneetti, jota voidaan liikkuttaa ferromagneettisessa holkisea. Tällainen magneettiväline viedää astiaan ja magneettiparikkeliin kerääänlyväät suojakalvon pinnalla sille kohdalle,
- 10 10 jossa magneetti on ferromagneettisen holkin ulkopuolella. Kuvan tapauksessa suojakalvossa on myös muotoiluja, joiden toimiin magneettipartikkelit voivat hyvin asettua. Elastomeeristä suojakalvoa on venytetty magneetin avulla, jolloin suojakalvossa olvien muotoilujen välimalka on myös kasvanut ja keräyspiiriä on lullut lisää. Magneettivälineeseen kerätyt magneettipartikkelit voidaan nyt siirtää pois liuoksesta
- 15 15 siirtämällä magneettiväline pois astiasta. Magneettiväline viedääni filterilliseen astiaan, jossa on sopivaa nestettä. Filteri voi olla valmistettu erilaisista materiaaleista ja se voi olla eri paksuinen sekä huokoisuusaste saattaa vaihdella paljon erilaisten tarpeiden mukaan. Filterin tilalla voi olla myös membraani tai sitten erityinen venttiiliratkaisu. Filterillisessä astiassa magneettivälleen magneetti viedääni ylöspäin ferromagneettisen holkin sisälle,
- 20 20 jolloin magneettikenttää ei enää ole suojakalvon ympärillä ja magneettipartikkelit voidaan vapauttaa suojakalvon pinnalta. Ferromagneettisella holilla venytetään suojakalvoa ja polstetaan venytystä sopivasti yhdistellen ja näin aikaansaadaan liuoksen sisällä virtauksia. Keksinnössä kuvatulla menetelmällä voidaan sekä sekoittaa tehokkaasti liuosta että edesauttaa magneettiparikkelen intoamista suojakalvon pinnalta. Magneettipartikkelit kerätään sopivasti filterillisestä astiasta tuomalla magneetti ulos ferromagneettisen holkin sisältä ja venyttämällä sopivasti elastomeeristä suojakalvoa. Nämä vaiheet eli ferromagneettisen holkin avulla aikaansaata suojakalvon edestakaisi venytystä ja magneettipartikkeliin keräystä magneetin avulla voidaan myös sopivasti yhdistellä jos halutaan saada aikaiseksi erittäin tehokkaita sekoitusominaisuksia. Kuvaessa esitetään
- 25 25 magneettivälineellä keräillyjen magneettiparikkeliin siirräminen pois filterillisestä astiasta ja liuoksen poistaminen astiasta. Magneettivälinettä ei väittämättä tarvitse siirtää pois astiasta liuoksen puistamisen ajaksi. Seuraavaksi filterillisseen astiaan lisätään uusi liuos ja magneettiväline tuodaan takaisin filterillisseen astiaan. Jos astiassa on sopivasti tilaa niin magneettivälinettä ei tarvitse poistaa astiasta seuraavaa liuosta lissäteessä vaan
- 30 30 magneettiväline voi olla sopivasti kohdistettuna esimerkiksi yhdelle astian seinämälle liuoksen lisäyksen ajaksi. Nämä filterillisen astian kanssa suoritettavia liuosten vaihtoja ja magneettipartikkeliin keräyksiä voidaan suorittaa haluttu määrä peräkkäin. Nämä saadulla

ratkaisulla voidaan säästää kertakäyttötavaroiden määrää merkittävästi.

Magneettivälisestä magneettipartikkeliit vapautetaan edellä kuvatulla tavalla ja sekoitetaan ferromagneetiseen holkin avulla suoritettavalla venytyksellä sekä liuksäykseillä.

Lopuksi, kun tarvittava määrä sekoituksia on tehty, magneetti siirretään ferromagneetisen 5 holkin ulkopuolelle ja kerätään magneettipartikkeliit suojakalvon päälle. Nyt magneettivälise ja magneettipartikkeliit voidaan siirtää seuraavaan astiaan, jonne magneettipartikkeliit vapautetaan edellä kuvatulla tavalla. Tästä astiasta prosessia voidaan jatkaa läpäen mukaan ja lopuksi magneettipartikkeliit voidaan poistaa astiasta kokonaan. Toinen tapa edetä filterillisen astian liuoslisäyksen jälkeen on vapauttaa magneettipartikkeliit 10 filterilliseen astiaan, jossa niitä voidaan pastä lisäämällä sopivia liuoksia tarpeen mukaan. Lopuksi magneettipartikkelleihin sidotut komponentit voidaan vapauttaa ja kerätä filterillisen astian alle laitettavaan erilliseen astiaan. Kaikki filterillisellä astialla suoritettavat liuosten poistot voidaan suorittaa joko vakuumia tai sentrifugia käyttämällä. Filterilliseen 15 astiaan tehtäväli liuosten lisäykset voidaa tehdä tavallisilla nesteannostimilla kuten manuaalisilla pipeteillä tai dispensereillä. Automaattiset netseenkäsittelylaitteistot soveltuват myös käytettäväksi menetelmässä.

Kuviossa 34 magneettipartikkeliit ovat filterillisessä astlassa, jossa voidaan toistaa liuosten 20 poistamista ja seuraavan liuoksen lisääminen useita kertoja. Magneettipartikkeliteita voi olla eri määriä, jolloin niiden sitomiskapasiteettia voidaan laajuttaessa merkittävästi suurentaa tai pienentää. Erityisen tärkeä sovellus on suurivolyymisen näytteen ajaminen magneettipartikkelerroksen läpi, jolloin haluttu näyte kiinnitettyy magneettipartikkeliin pinnalle. Magneettipartikkeliin pinnalle voi olla kiinnitetynä spesifisiä ligandeja kuten esimerkiksi vasta-aineita, peptidejä tai nukleotidejä. Näytteessä voi olla esimerkiksi 25 bakteereja, viruksia, soluja, nukleinhappoa, proteiinia tai peptidiä, joita halutaan kerätä magneettipartikkeliin pinnalle. Erityisen soveltuva tämä tapa on sillöin, kun suurivolyymisessä näytteessä on hyvin vähän kerättävää komponenttia (esim. bakteereja).

Näytteen käsittelyn ja mahdollisten pesujen jälkeen magneettipartikkeliit kerätään filteriltä 30 magneettiväliseen avulla. Magneettiväliseessä voi olla edullisesti poikittain magnetoitu magneetti ja sopivasti muotoiltu suojakalvo, joka yhdessä mahdollistavat suurenkin magneettipartikkelimassojen keräämisen filteriltä. Keksinnössä kuvatulla elastomeerisen suojakalvomateriaalin toistuvalla venytyksellä aikaansaadulla liuoksen ja magneettipartikkeliin sekoittamisella saadaan filterille kerääntyneet magneettipartikkeliit 35 hyvin irroittelia filteriltä. Magneettiväliseellä voidaan magneettipartikkeliit edelleen siirtää toisiin astioihin mahdollisia jatkopesuja, inkubointeja, eluaatiota ja/tai detektiota varien.

Kuviossa 35 esitetään useamman kuin yhden magneettivälineen ja filterillisten astioiden käyttämistä magneettipartikkeliin käsittelyyn (sekoitus, keräys, vapautus, siirtäminen), asluiden sulkuun ja avaamiseen sekä liuosten käsittelyä (liuosten poistaminen ja lisääminen). Magneettiväline ja filterilliset astiat voivat olla esimerkiksi järjestettyinä 8 tai 12 yksikön riviin. Hyvin soveltuva toteutusmuoto voi myös olla 24, 48, 96 ja 384 levyt, jolloin näytteiden käsittely nopeutuu merkittävästi ja tällainen ratkaisu soveltuu hyvin esimerkiksi automaattiseen ratkaisuun.

Kuviossa 35 esitetään magneettivälineen avulla filterillisen astian sulkeminen viemällä magneettiväline ja magneettipartikkeliit astiaan. Magneettivälineen suojakalvolla voi olla erityinen muotoilu edesauttamalla liukseen liiviyltä. Yksinkertaisin tapa tilvistää illos on magneettivälineen painaminen voimakkaasti filterillistä astian vasten. Suojakalvon elastomeerisen materiaalin venyttämisenaihuisuksia voidaan myös käyttää hyväksi astian liiviin sulkeisen ja helpon avaamisen toteuttamisessa. Liuoksia voidaan tarpeen mukaan vaihtaa useampia kertoja yksinkertaisesti imemällä edellinen liuos filterin läpi pols ennen uuden liuoksen lisäämistä astiaan. Magneettipartikkeliit voidaan täksi ajaksi kerätä magneettivälineeseen künni.

Erityisen soveltuva tällainen magneettipartikkeliin käsittelyratkaisu on automatisessa laitteistossa, jossa on nesteenkäsittelyyn tarvittavat annostimet, filterillisten astioiden (csim. 96 ja 384 levyformaatti) vakuumityöasema ja monimagneettinen (esimerkiksi 8, 12 tai 96 magneettinen) magneettityökalu.

Kuvossa 36 magneettipartikkelieltä sisältävä astia viedään astian ulkopuolisen magneetin viereen, jolloin magneettipartikkeliit kerääntyvät pelletteiksi magnetin läheisyyteen astian sisäseinämälle. Nyt on mahdollista imävä neste pois astiasta niin, että magneettipartikkeliit jäävät astian seinämälle. Astiaan voidaan lisätä seuraava liuos ja magneettikenttä voidaan poistaa liikuttamalla ferromagneettinen holkki magneetin päälle. Magneettikentän poistuttua voidaan magneettipartikkeliit saattaa liuokseen homogeeniseen tilaan sekottamalla liuosta ei tavoin.

Yhden tavan mukaan (ylin kaaviokuva) magneettipartikkelpelletti voidaan saada homogenisoitua pelletistä liuokseen esimerkiksi pipelin kärjen avulla liikuttamalla liuosta edestakaisin pellelin läheisyydessä. Tätä ennen magneetin ympäriile on tuotu ferromagneettinen holkki, joka poistaa magneetin magneettikentän ja näin magneettipartikkeliit ovat saatettavissa sekottamalla jälleen homogeniseksi liuokseen. Haluttaessa vaihtaa liuos toiseen toimitaan kuten edellä eli poistetaan ferromagneettinen

holkki magneettin ympäriltä, jolloin magneettikenttä vetää magneettipartikkeliit pelletiksi. Tämän jälkeen imetään liuos pois ja lisätään seuraava liuos. Näitä välivaiheita voidaan toistaa tarvittava määrä riippuen sovelluksesta.

- 5 Toinen tapa (keskimmäinen kaaviokuva) saada magneettipartikkeliit homogenisoitua liuokseen on tuoda keksinnössä kuvattu magneettiväline astiaan ja toisluvasti venytää ja löysätä elastomeeristä suojakalvoa niin, ettei magneetti ole ferromagneetisen holkin ulkopuolella. Ennen tätä astian ulkopuolisen magneettin ympäristölle on viety ferromagneettinen holkki, jolloin magneettikenttä on eliminoitu ulkopuolisesta magneetista.
- 10 Suojakalvon venytely suontetaan ferromagneetisen holkin avulla. Nämä aikaansadaan tchokas sekoitus liuokseen ja magneettipartikkeliipelletti helposti homogenisoitua takaisin liuokseen. Samalla kun kiuosta sekoitetaan magneettivälineellä voidaan astia sulkea ja näin estää osimmarkkien liuoosten haihtumista. Erityisen edullinen tämä suoritusmuoto on silloin, kun halutaan suorittaa pitkiä inkubointeja ja/tai käyttää korkeita lämpötiloja, jolloin haihtumisesta tullee suuri ongelma. Magneettivälineellä voidaan kerätä magneettipartikkeliit liikuttamalla magneetti ulos ferromagneetisen holkin sisältä. Magneettipartikkeliit kerääntyytä suojakalvon ulkopuolelle ja on siirrettäväissä magneettivälineen mukana pois astiasla. Astiasla voidaan imetää liuos pois ja lisätä seuraava liuos ja magneettipartikkeliit voidaan tuoda ja vapauttaa takaisin samaan astiaan. Toinen tapa on siirtää magneettipartikkeliit toiseen astiaan, minne magneettipartikkeliit voidaan larvittaessa vapauttaa.

- 25 Kolmas tapa (alin kaaviokuva) saada magneettipartikkeliit sekoitettua homogeniseksi liuokseen on tuoda erityinen sekoitusväline astiaan. Sekoitusvälineen perusperiaale sekottamiseteklin suhteen on sama kuin edellisessä tapauksessa eli venytämällä elastomeeristä suojakalvoa edestakaisin saadaan liuokseen luotua virtauksia. Tässä tapauksessa sekoitusvälineessä ei ole magneettia vaan pelkästään tanko suojakalvon sisällä, jota liikuttamalla voidaan elastomeeristä valmistettua suojakalvoa venyllää ja löysältä tarpeen mukaan. Tässäkin tapauksessa astian ulkopuolisen magneettin tullee olla ferromagneettisen holkin sisällä eli astian ulkopuolinen magneettikenttä poistettu. Haluttaessa kerätä magneettipartikkeliit pelletiksi poistetaan ferromagneettinen holkki astian ulkopuolisen magneettin ympäriltä, jolloin magneettipartikkeliit muodostavat pelletti astian selsäseinämälle. On mahdollista että, sekoitusväline siirretään pois astiasta tai se on astiassa silloinkin kun liuos imetään astiasta pois ja seuraava liuos lisätään astiaan.
- 35 Kuviossa 37 on osittely filterillisen astiaston (esim. 96-formaatti) ja magneettipartikkeliien käsittelyä magneettivälineen sekä sekoitusvälineen kanssa. Filterililevyn alapuolella

erillisten kuoppien /astioiden välissä on magneetit, jonka ympärillä olevaa ferromagneettista holkkia voidaan liikuttaa suhteessa magneettiin. Haluttaessa magneettikenttä pois magneetin ympäriltä liikutetaan ferromagneettinen halkki magneetin päälle. Eräässä eksinnöön soveltuu muodossa sekä magneettia että ferromagneettista holkkia voidaan liikuttaa erikseen. Tällöin magneettipartikkeli kerääri lyyiskohtaa ja kerääntymisalueen laajuutta voidaan kontrolloida yksinkertaisesti magneetin ja ferromagneettisen holkin avulla. Kuvassa on esitetty suoritusmuoto, jossa magneetti ei liiku vaan ainoastaan ferromagneettinen halkki liikkuu suhteessa magneettiin. Aluksi magneettipartikkelit ovat homogeenisesti liuoksessa ja magneetti on ferromagneettisen holkin sisällä. Ferromagneettinen halkki liikutetaan pois magneetin ympäriltä, jolloin magneetin magneettikenttä kerää magneettipartikkelit astian sisäseinämälle pelletiksi. Liuos voidaan immeä filteripohjan läpi pois esimerkiksi vakuumin avulla. Seuraava liuos voidaan lisätä astiaan ja ferromagneettinen halkki liikutetaan jälleen magneetin päälle.

15 Eneimmäisessä vaihtoehdossa astiaan tuodaan erityinen siirtoväline, jossa on elastomeerinen suojakalvo ja suojakalvon sisällä ylös- ja alas päin liikuteltava tanko. Tankoa liikuttamalla alas päin elastomeerin suojakalvo venyy ja liikutettaessa lankua ylöspäin suojakalvon jännitys palautuu takaisin. Tällaisella sekoituksella saadaan aikaan nestevirtauksia ja menetelmä soveltuu erinomaiseen hyvin partikkelienv sekoituksiin pienissä tilavuuksissa (esim. 96-levyt). Magneettiväline ilse ei liiku tämän tapahtuman aikana vaan ainoastaan tanko suojakalvon sisällä. Tässä tapauksessa magneettiväline ja siinä oleva suojakalvo voivat sulkea astian sekoituksen ajaksi. Sekuuluvälineen sekotilaassa ulkopuolinen magneetti on katettu kokonaan ferromagneettisella holkillä. Ferromagneettisen holkin siirtämisellä pois magneetin ympäriltä voidaan kerätä magneettipartikkelim pelletiksi astian sisäseinämään ja liuos immeä pois filterin läpi. Tämän jälkeen voidaan seuraava liuos lisätä astiaan.

Toisessa vaihtoehdossa astiaan tuodaan magneettiväline, jonka avulla sekoitus suontetaan edellisessä vaihtoehdossa kuvatulla tavalla siten, että magneetti on koko ajan ferromagneettsien holkin sisäpuolella. Ferromagneettinen halkki toimii elastomeerisen suojakalvon venytäjänä ja löysääjänä. Tässäkin tapauksessa magneettiväline ja suojakalvo voivat sulkea astian sekoituksen ja muiden tapahtumien ajaksi. Kerättäessä magneettipartikkelit magneettivälineen suojakalvon ympärille tuodaan magneetti ferromagneettisen holkin sisältä ulos ja magneetilla venytetään suojakalvoa.

35 Magneettipartikkelit voidaan siirtää pois astiasta viemällä koko magneettiväline pois astiasta. Liuos voidaan immeä pois filterin läpi pois ja seuraava liuos voidaan lisätä astiaan. Magneettivälineellä voidaan tuoda magneettipartikkelit takaisin samaan astiaan ja siirtää

edellä kuvattuja sekoituksia ja keräyksiä tarpeen mukaan. Magneelipartikkeliit voidaan siirtää myös toiseen astiaan jatkokäsittelyjä varten.

5 Kuvio 38 on identtinen kuvion 37 kanssa paitsi, että kuvassa 6 astia on tavallinen kuoppa (esim. 96-mikrotiitterilevyn kuoppa) ja liuosten poistaminen kuopasta tapahtuu lumenäillä astian yläpuolelta esimerkiksi pipetillä tai vesi-imulla.

10 Kuvion 39 vasemmassa yläkulmassa olevassa kuviossa 39a esitetään universalia sekoitusvälinettä, jossa on elastomeerinen suojakalvo. Kuvan tapauksessa suojakalvossa on erilaisia muotoiluja. Suojakalvon sisällä on ylös- ja alas päin liikuteltava tanko. Tanko voi olla eri materiaaleista (esimerkiksi muovi tai metalli) valmistettu. Venytelläessä suojakalvoa painamalla tankoa alas päin ja löysäämällä venytystä liikuttamalla tankoa ylöspäin saadaan aikaiseksi liuoksessa virtauksia. Virtauksia voidaan vielä voimistaa käytettäessä suojakalvon pinnalla erilaisia muotoiluja ja valitsemalla astia sopivasti.

15 15 Sekoitusvälineelle on myös ominaista se, että sillä voidaan sulkea astian aukko niin ette halhtuminen vähentyy ja rölskeiden riski minimoituu. Astian sulkaminen voidaan tehdä sekoitukseen aikanakin koska sekoitusvälineessä ainoastaan sisällä oleva tanko liikkuu venytäen elastomeeristä valmistettua suojakalvoa. Erityisen tehokas tällainen ratkaisu on automaattisissa laitteissa ja pienien tilavuuksien sekoituksissa.

20 20 Oikeassa yläkulmassa olevassa kuvassa esitetään sovellus, jossa suojakalvo on yhtenäinen vierekkäisille sekoitusvälineille ja aslioille. Erityisen edullinen suoritusmuoto on esimerkiksi yksi yhtenäinen suojakalvo, esimerkiksi silikonikuminen levy, mikrotiitterilevyn päällä (96-kuoppaa). Suojakalvon materiaali voi olla myös eri elastomeerisestä materialista valmistettu. Tässäkin ratkaisussa kuoppien sulkaminen pystytään järjestämään samanaikaisesti kun kuopissa olevia liuoksia sekoitetaan. Tällaisella suoritusmuodolla vain osaa kuopasta voidaan sekoittaa, ja toisten kuoppien voidaan antaa olla sekoittamatta. Erityisen edullinen keksinnön suoritusmuoto on korkeassa lämpötilassa suoritettavat reaktiot ja inkubaatiot, jolloin haihtuminen on suurta. Sulkemalla astiat saadaan 30 haihtumista vähennettyä merkittävästi.

35 Alimmat kuvat esittävät erilaisia vaihtoehtoja suojakalvon muotoilulle. Supiva muotoilu riippuu myös käytettävän astian sisämitoista, muotoiluista sekä käytettävästä liuosmääristä.

36 Kuviossa 40 esitetään yksi mahdollinen sovellus ulkopuolisen magneelin ja ferromagneettisen holkin käytölle esimerkiksi 96-kuntopalevyjen kanssa. Magneetin alla voi

olla jousitus ja painamalla levyä alas päin levy samalla painaa magneetin ferromagneettisen holkin sisälle. Kun magneetti on ferromagneettisen holkin sisällä ulkopuolla ei ole magneettikenttää ja magneettipäälkkien muodostama pölletti voidaan homogenisoida keksinnössä kuvatuilla eri tavoilla liuokseen. Levyyn painaminen voidaan suorittaa keksinnössä kuvatun magneettivälineen tai sekoitusvälinen toimesta.

Keksinnössä kuvatut sekoitukset ja astian sulkeminen voidaan suorittaa tällaisen jousitusratkaisun kanssa tehokasti. Painamalla esimerkiksi magneettivälineellä astiaa tai levyä alas päin suljetaan astian/astioiden aukot ja samalla ulkopuolinens magneetti painetaan ferromagneettisen holkin sisään. Kun magneettivälineellä pidetään astiaa/levyä alhaalla voidaan keksinnössä kuvatut sekoitukset ja magneettipäälkkien keräykset suorittaa tehokaasti. Samalla astia pysyy varmasti suljettuna. Astiat voivat olla myös filteripohjaisia ja keskinnössä kuvattut erilaiset filteripohjallisten astioiden käytöstä tulevat tässäkin ratkaisussa selvästi esille.

15 Magnettivälineen, vaikka siinä ei olisikaan elastomeeristä suojakalvoa, siirtäminen ja sen käytäminen filterillisten astioiden sekä ulkopuolisen magneetin kanssa keksinnössä kuvatuilla eri tavoilla kuuluu patentin keksinnön piiriin.

20 Yllä mainitut keksinnön suoritusmuodot ovat vain esimerkkejä keksinnön mukaisen idean luoleullamisesta. Alan ammattimiehelle on selvää, että keksinnön erilaiset suoritusmuodot voivat vaihdella jäljempänä esitettävien patenttivaatimusten piittäessä.

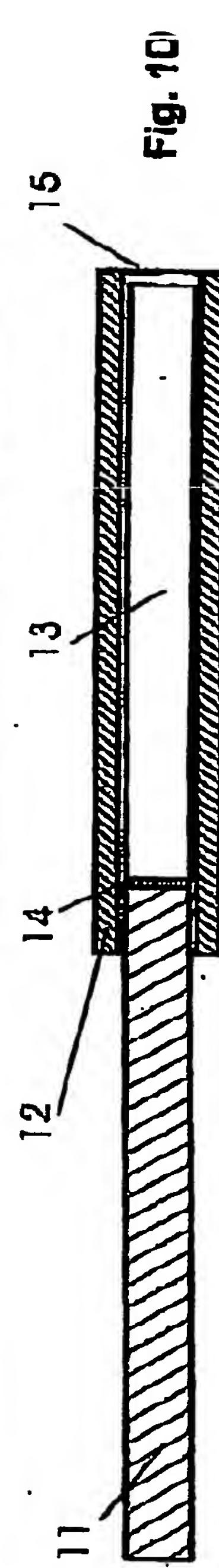
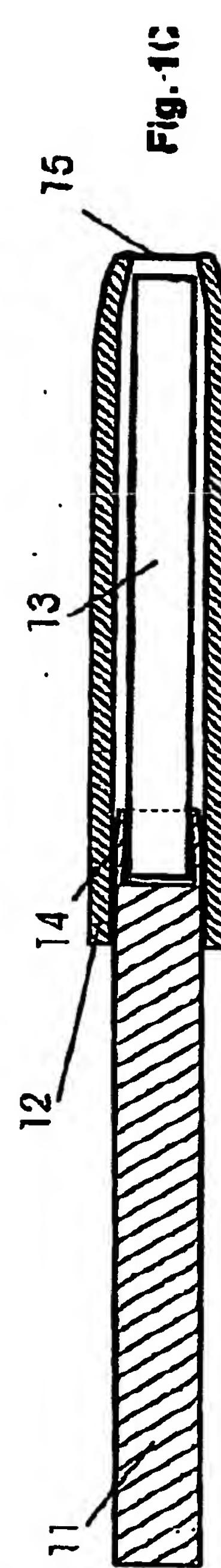
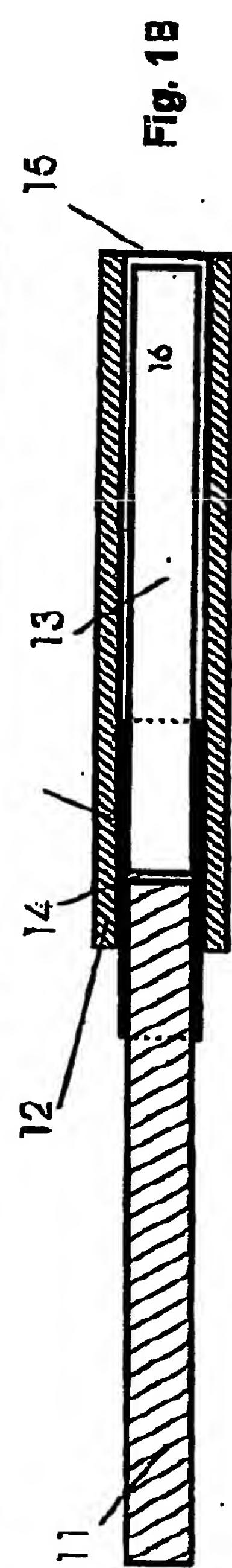
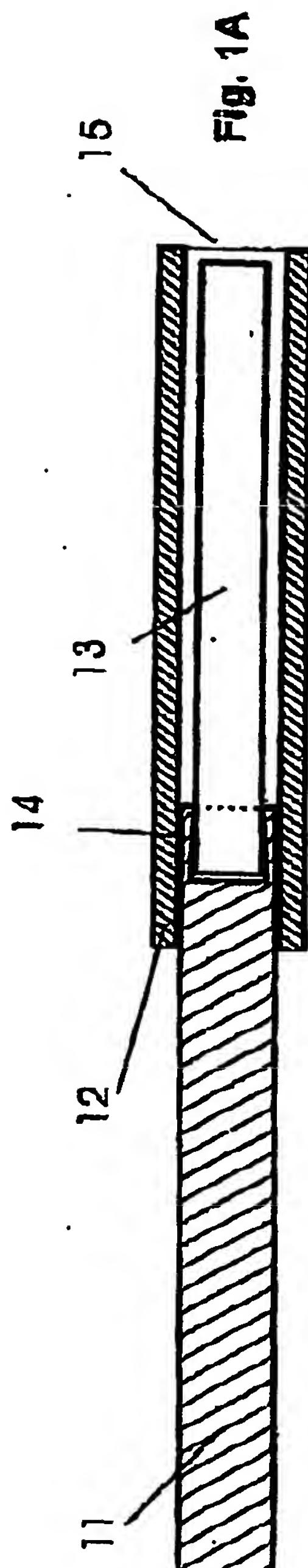
VIITENUMEROLUETTELO

- 10 magneettiyksikkö
- 11 tanko
- 5 12 ferromagneettinen pulki tai hulki
- 13 magneetti
- 14 liitoskohta
- 15 suuaukko
- 16 liitosputki
- 10 17 magneettikentää kuvaavat viivat
- 18 magneettikentän keräysalue
- 19 magneettikentä
- 20 keräyspinta
- 21 suojakalvo
- 15 22 mikropartikkkelit
- 23 liuos
- 24 magneetin napa
- 25 neste pinta
- 26 astia
- 20 27 käämä
- 28 pyöritysakseli
- 29 suojakalvon harjanne
- 30 mikropartikkeliön siirtolaite
- 31 runkoputki
- 25 32 soviteholki
- 33 kiinnityslalappa
- 34 putkensiirtoyksikkö
- 35 putkensiirtotappi
- 36 pitkänomainen aukko
- 30 37 magneetin siirtoluisli
- 38 magneetin siirtotappi
- 39 pitkänomainen aukku
- 40 mikropartikkeliön monikanavasiirtolaite
- 41 magneettiyksikköryhmä
- 35 42 tasku
- 43 yhdystanko
- 44 palautusjousi

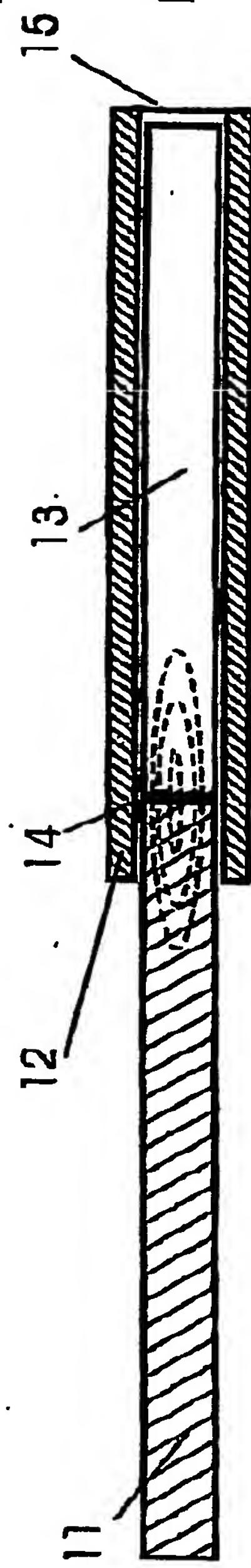
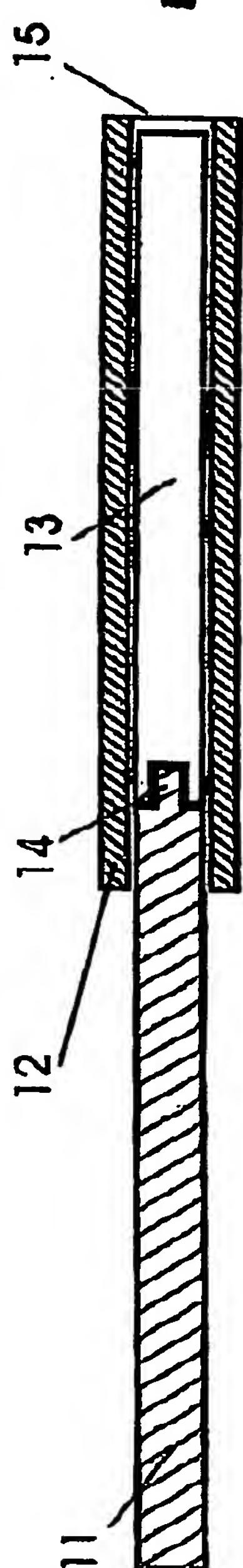
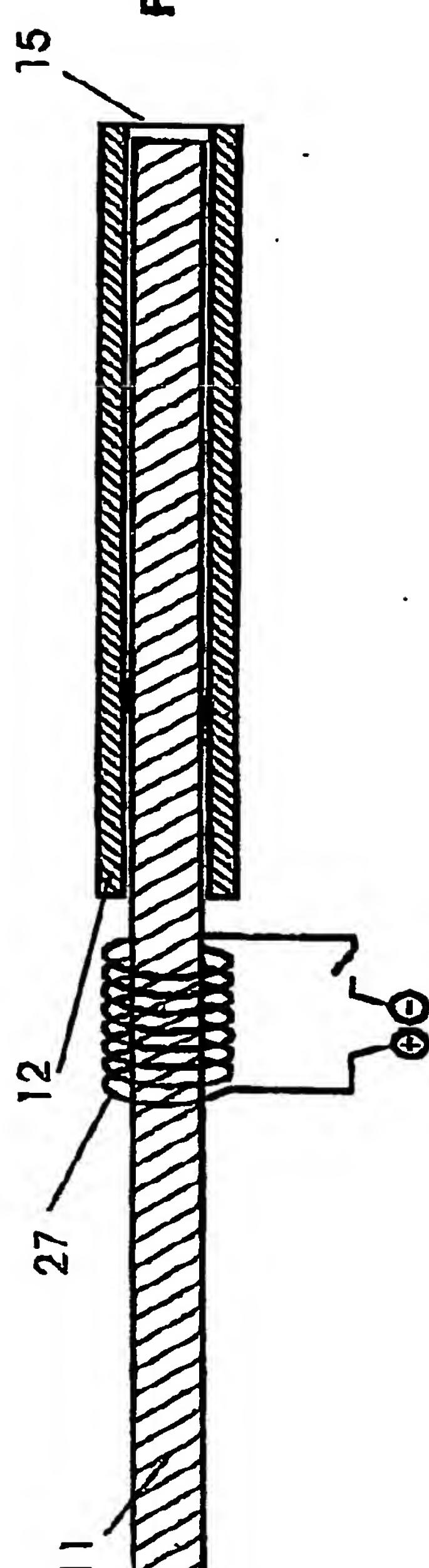
- 45 välistanko
- 46 "lippasin"
- 50 automaatti
- 51 matriisi
- 5 52 kontrolliyksikkö
- 53 nuoli
- 54 nuoli
- 55 näyttelevy
- 56 matriisi (toisen kentän)
- 10 57 taso
- 58 (toinen) kontrolliyksikkö
- 60 reaktionyksikkö
- 61 reaktioastia
- 62 kanava
- 15 63 venttiili
- 64 kärkiosa
- 70 olosuhdekaappi
- 71 moottori
- 72 käyttölaite

20

2



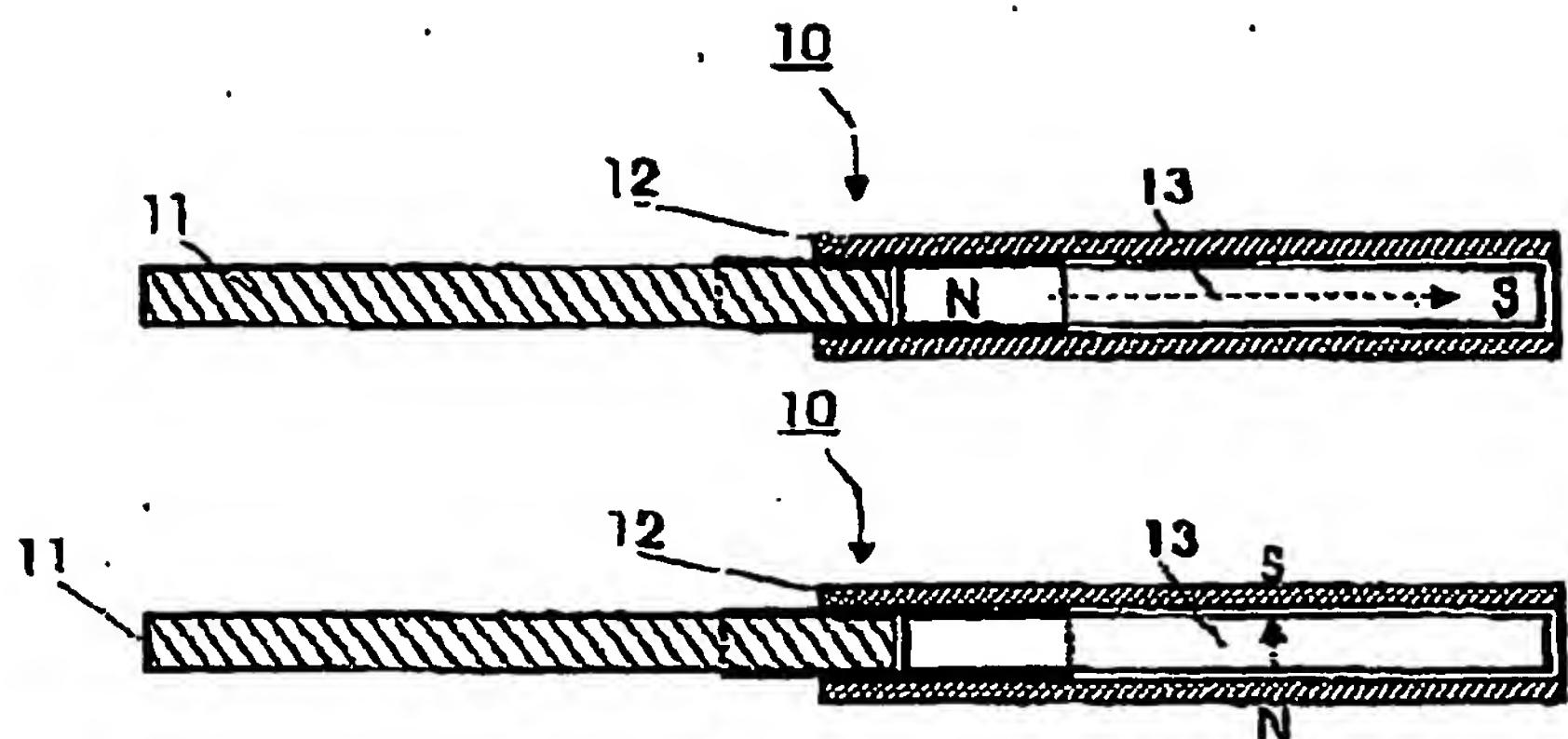
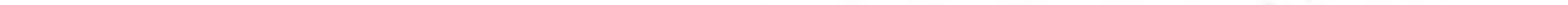
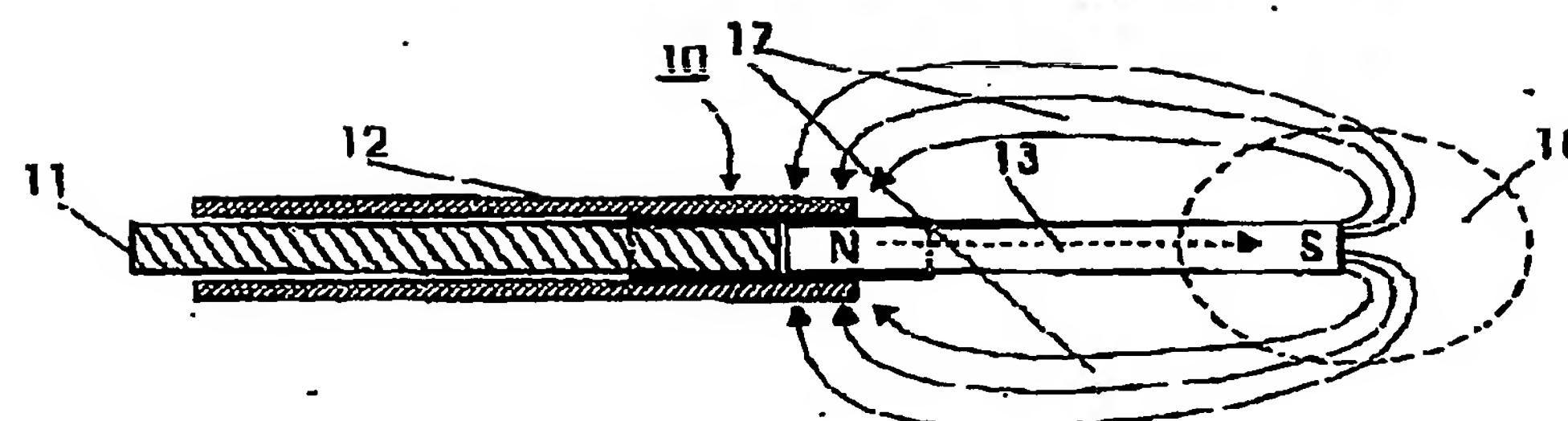
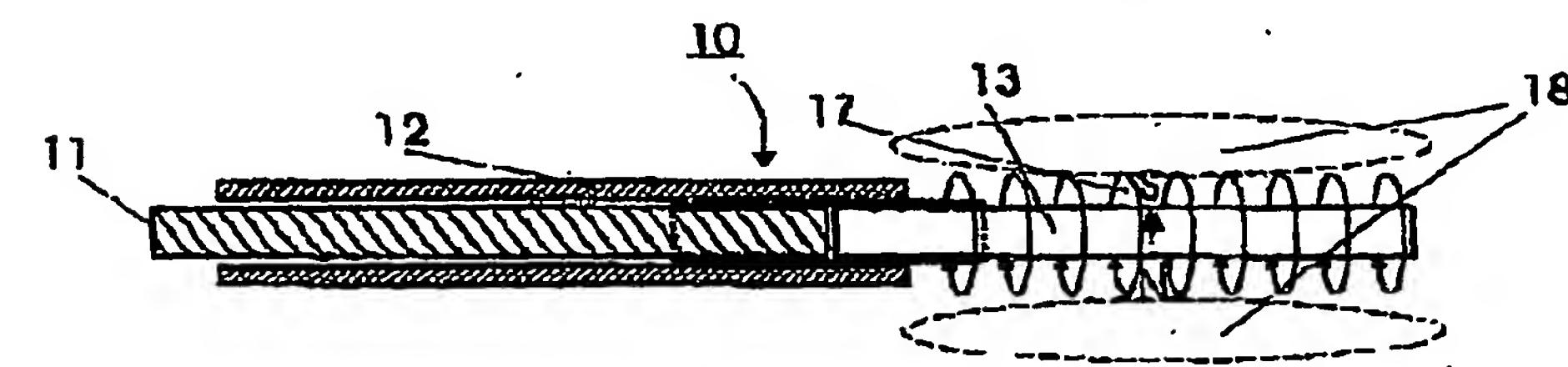
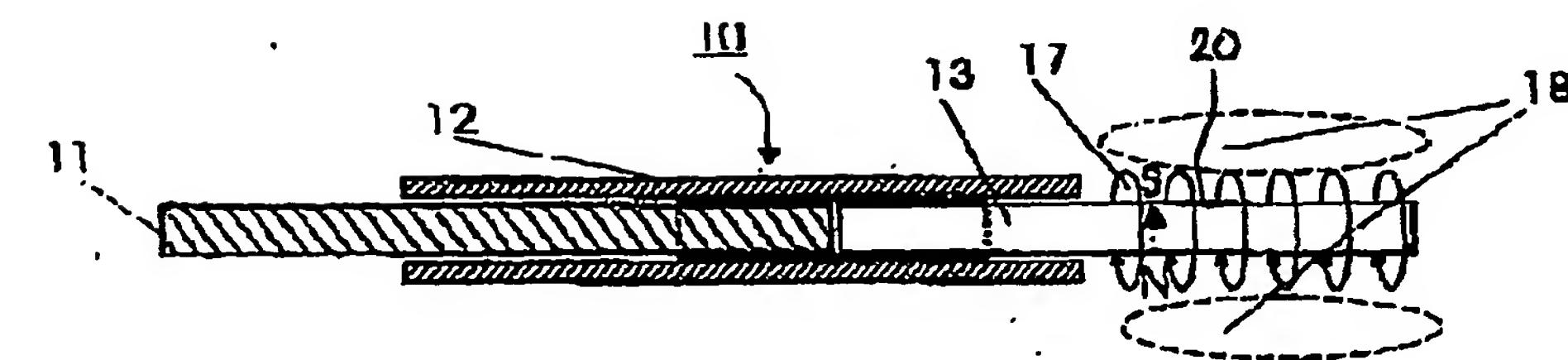
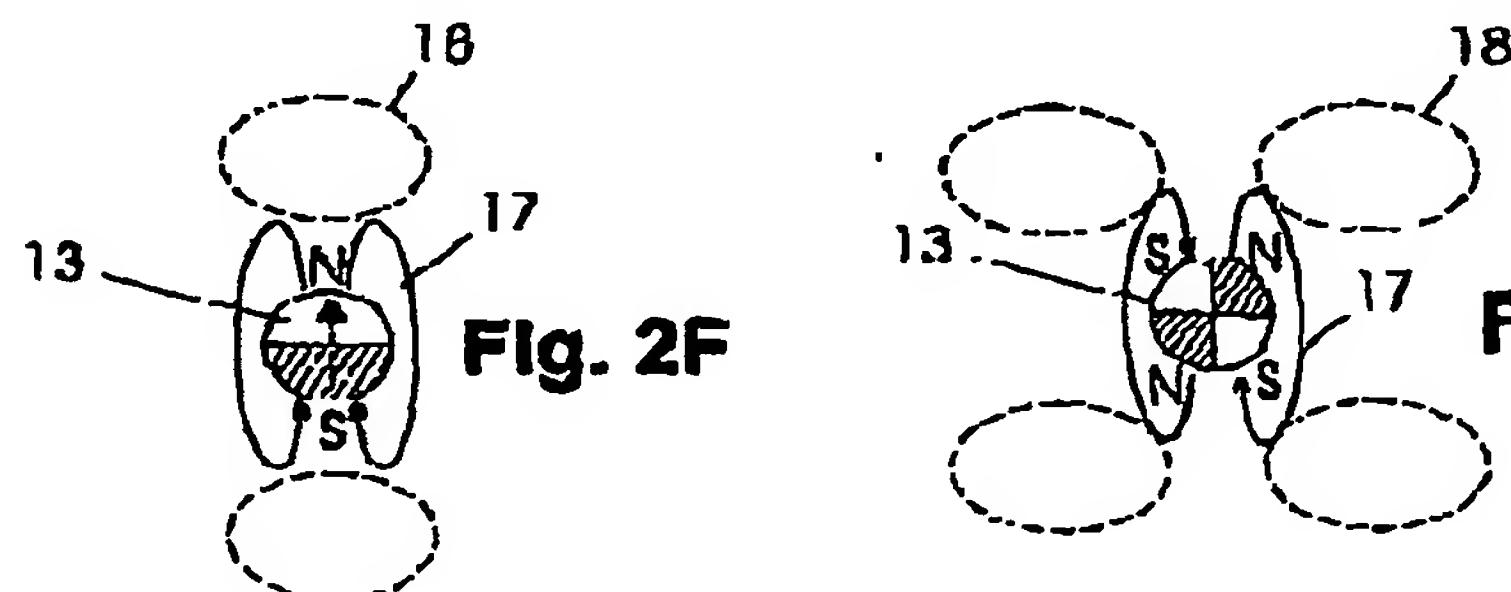
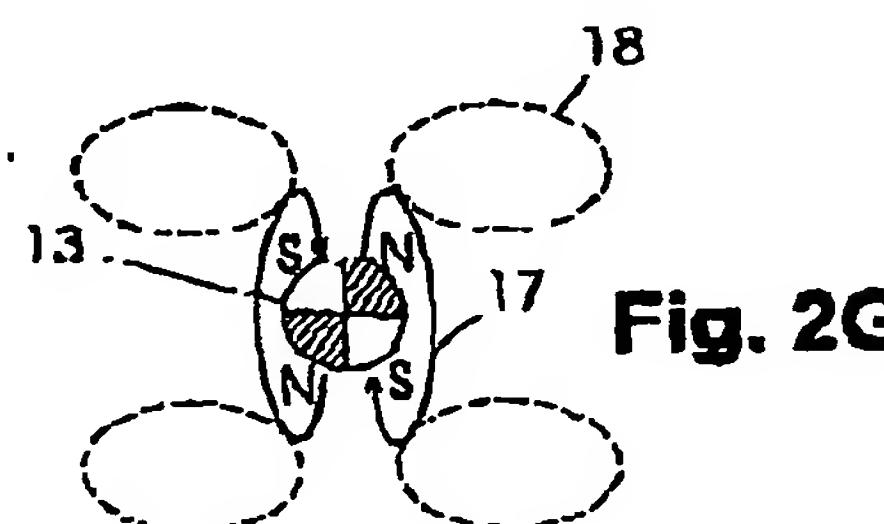
2

Fig. 1E**Fig. 1F****Fig. 1G**

2

L 2

3

**Fig. 2A****Fig. 2B****Fig. 2C****Fig. 2D****Fig. 2E****Fig. 2F****Fig. 2G**

4

1 2

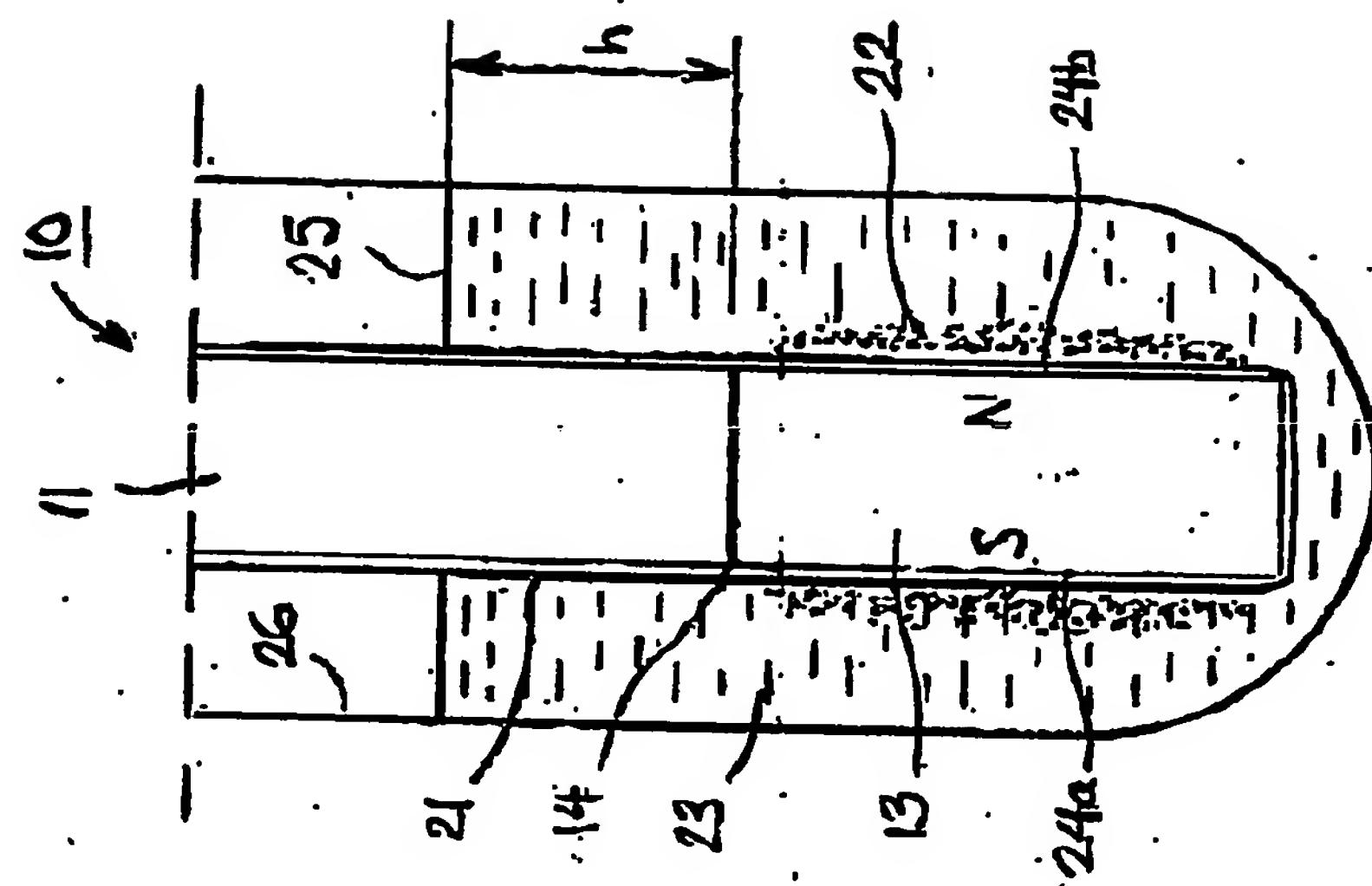


FIG. 3B

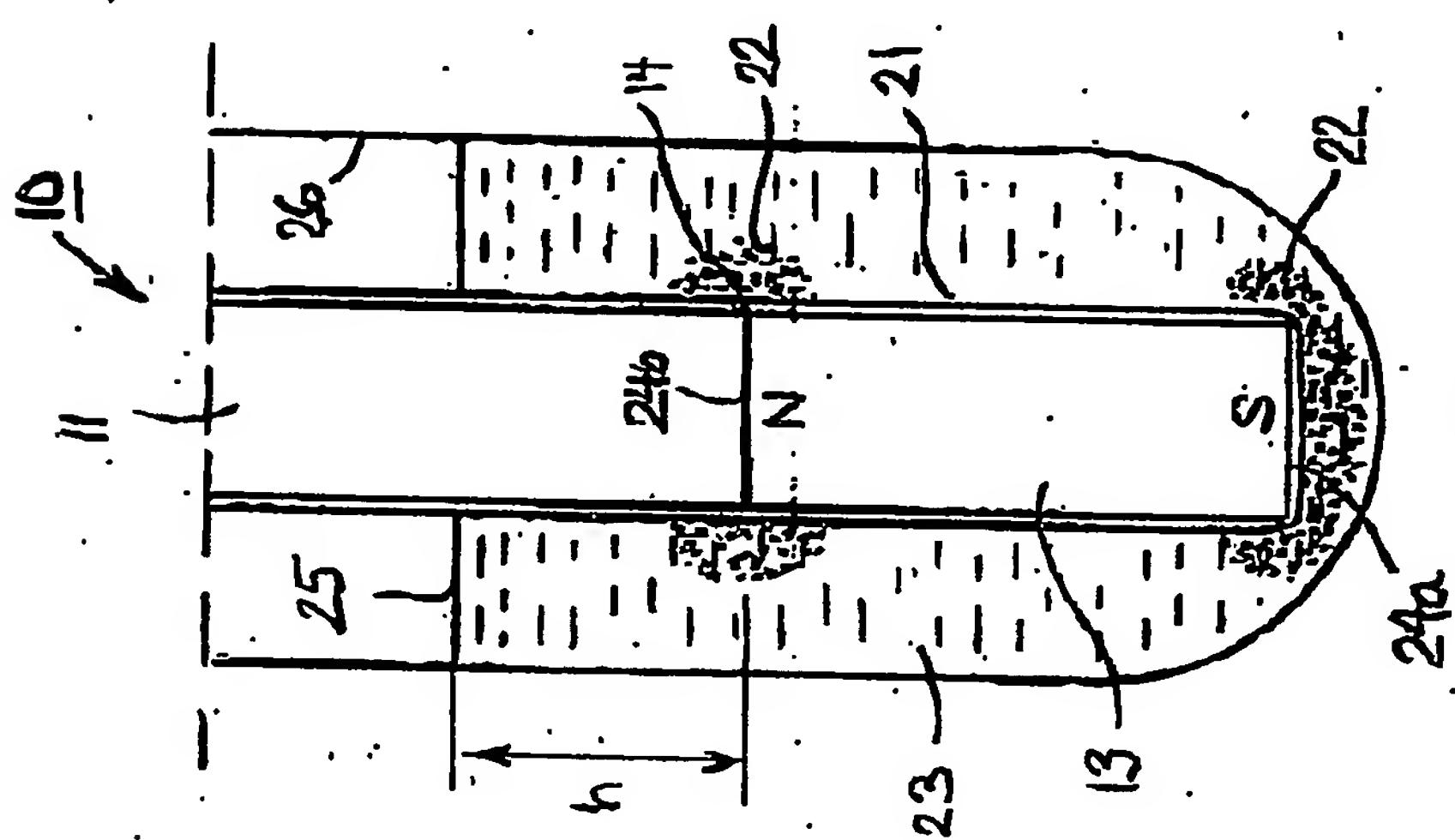


FIG. 3A

L 2

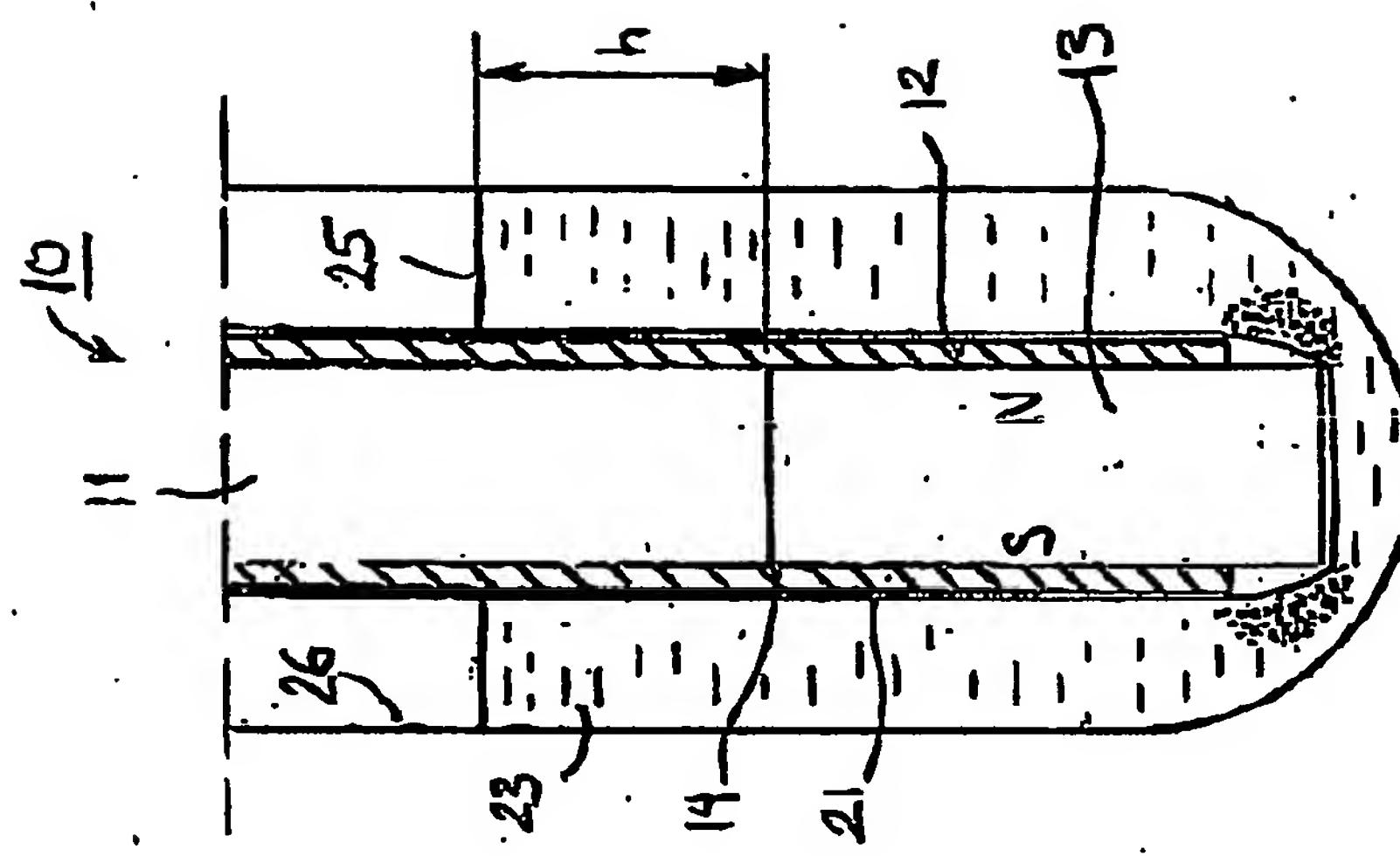


FIG. 4B

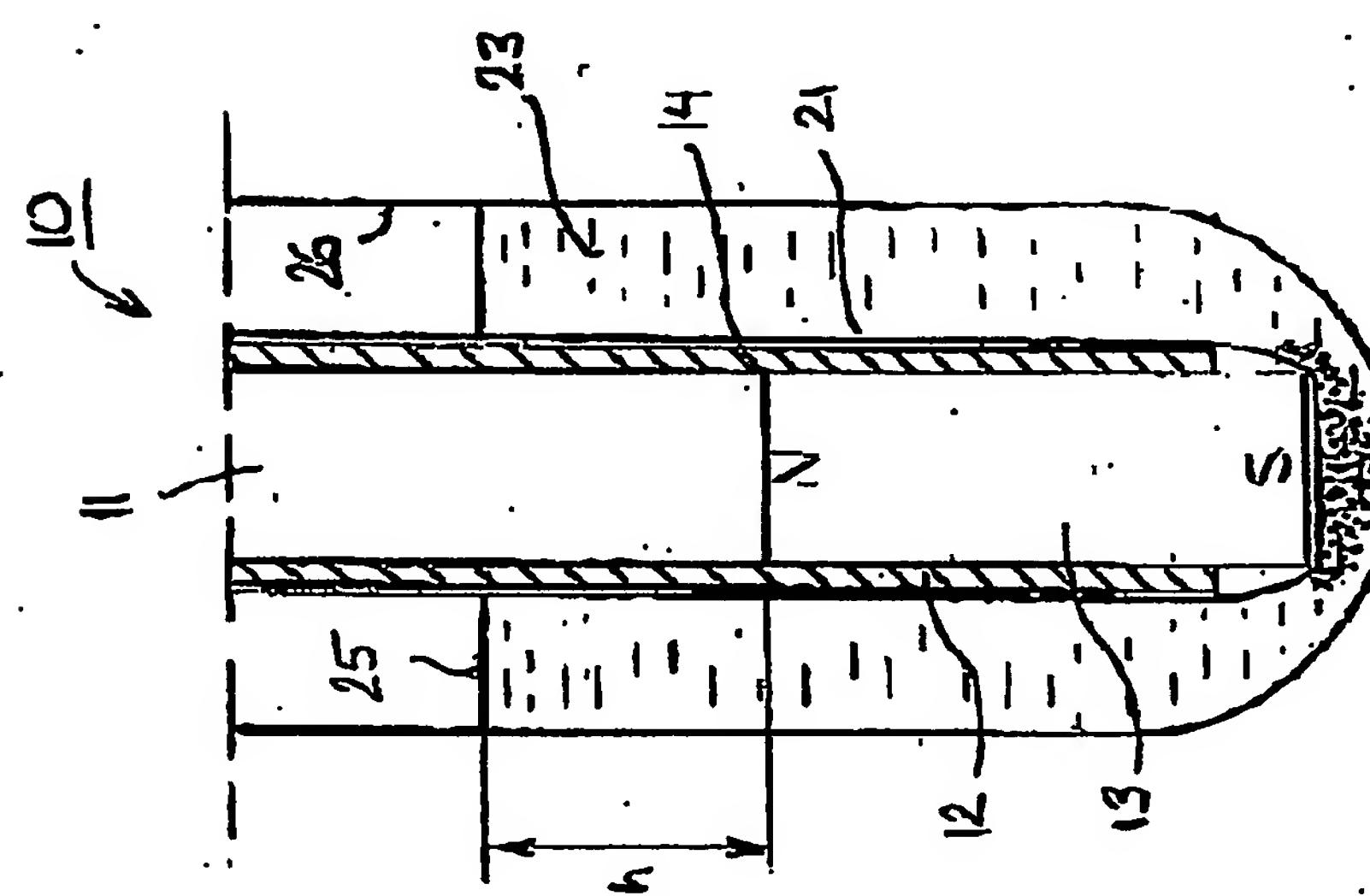


FIG. 4A

L 2

6

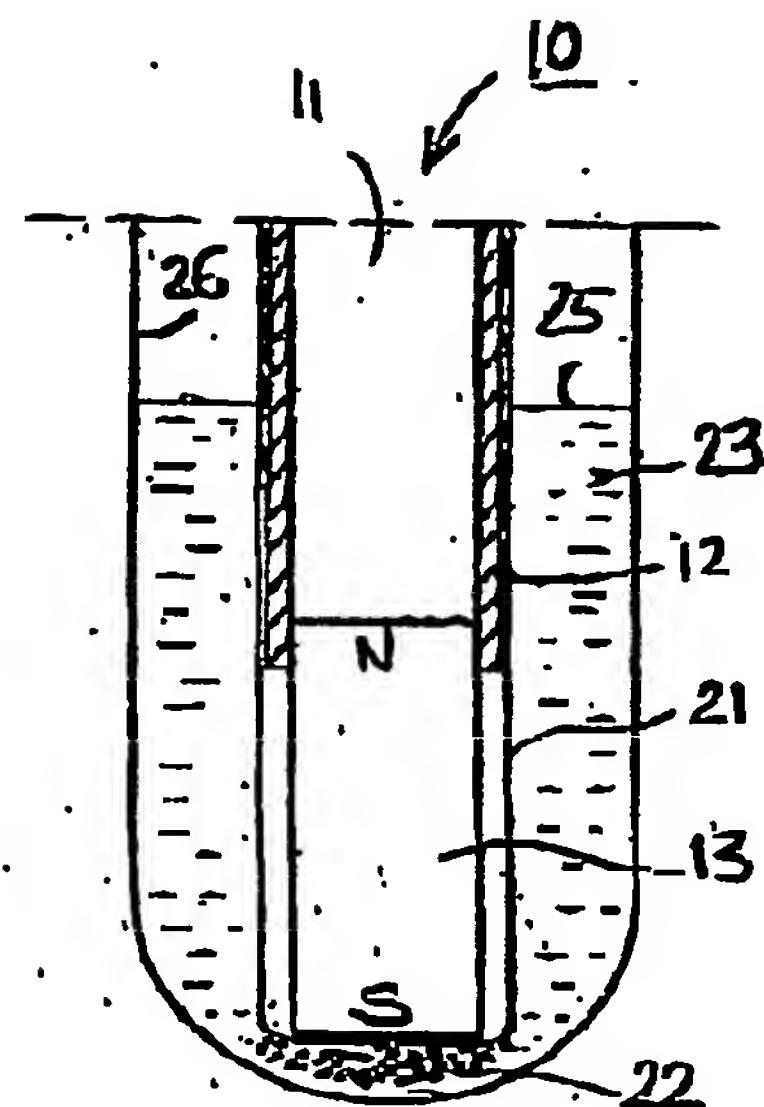


FIG. 5A

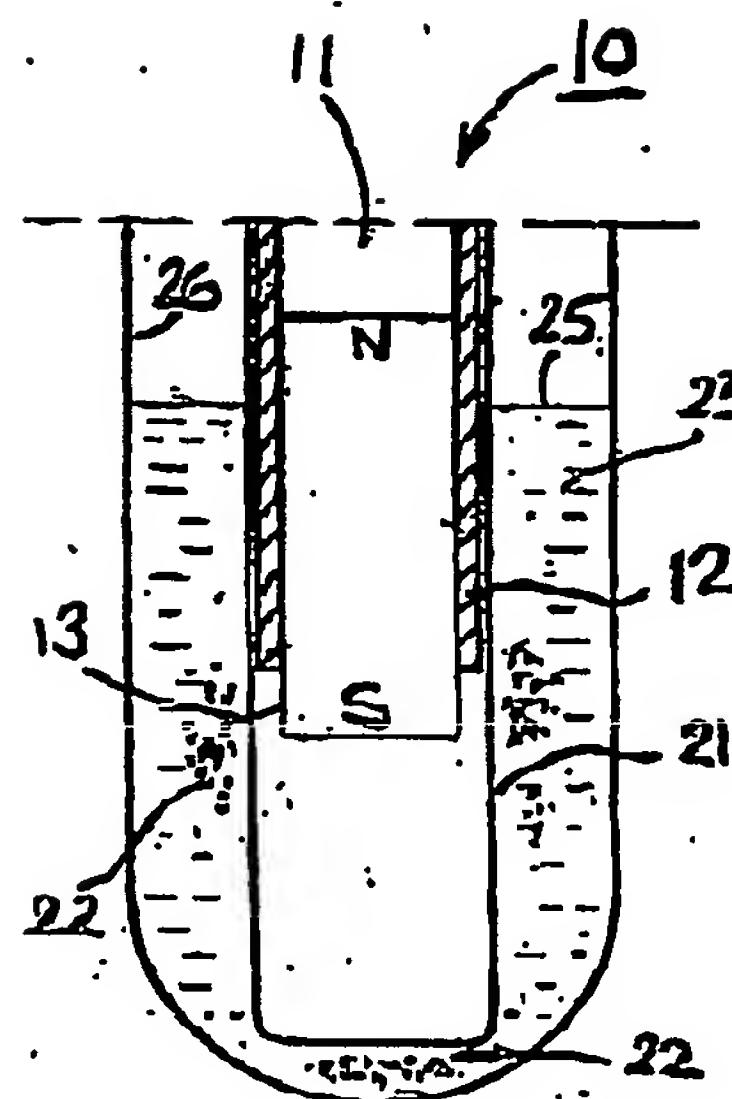


FIG. 5B

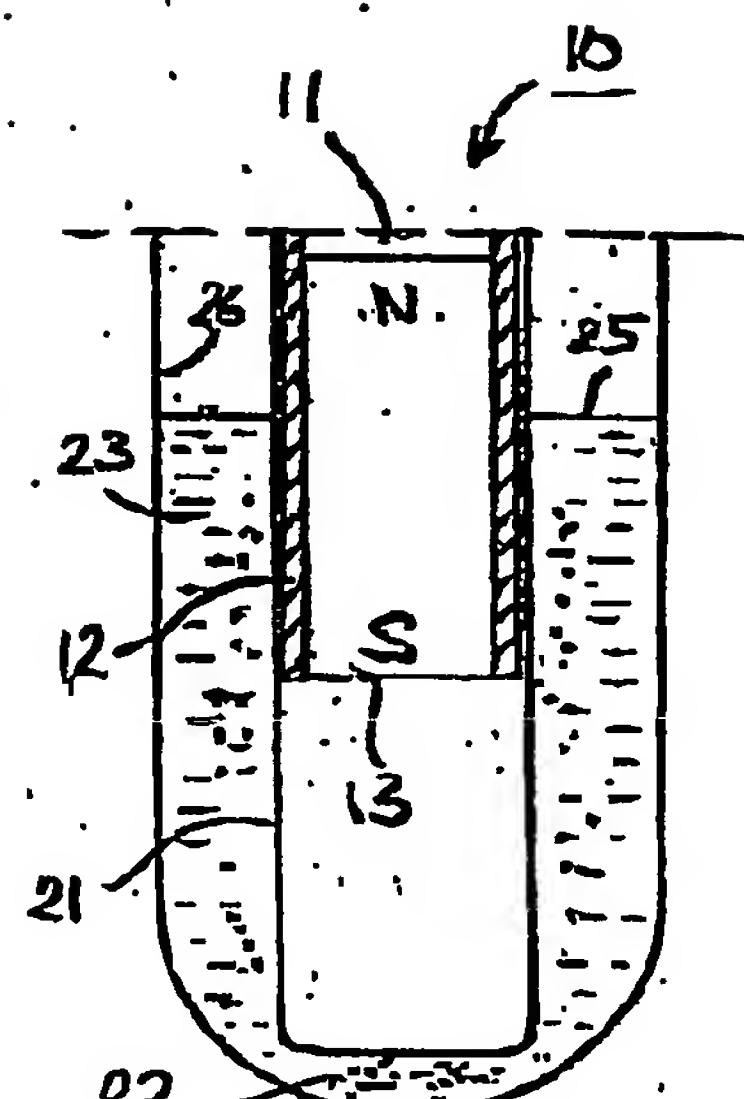


FIG. 5C

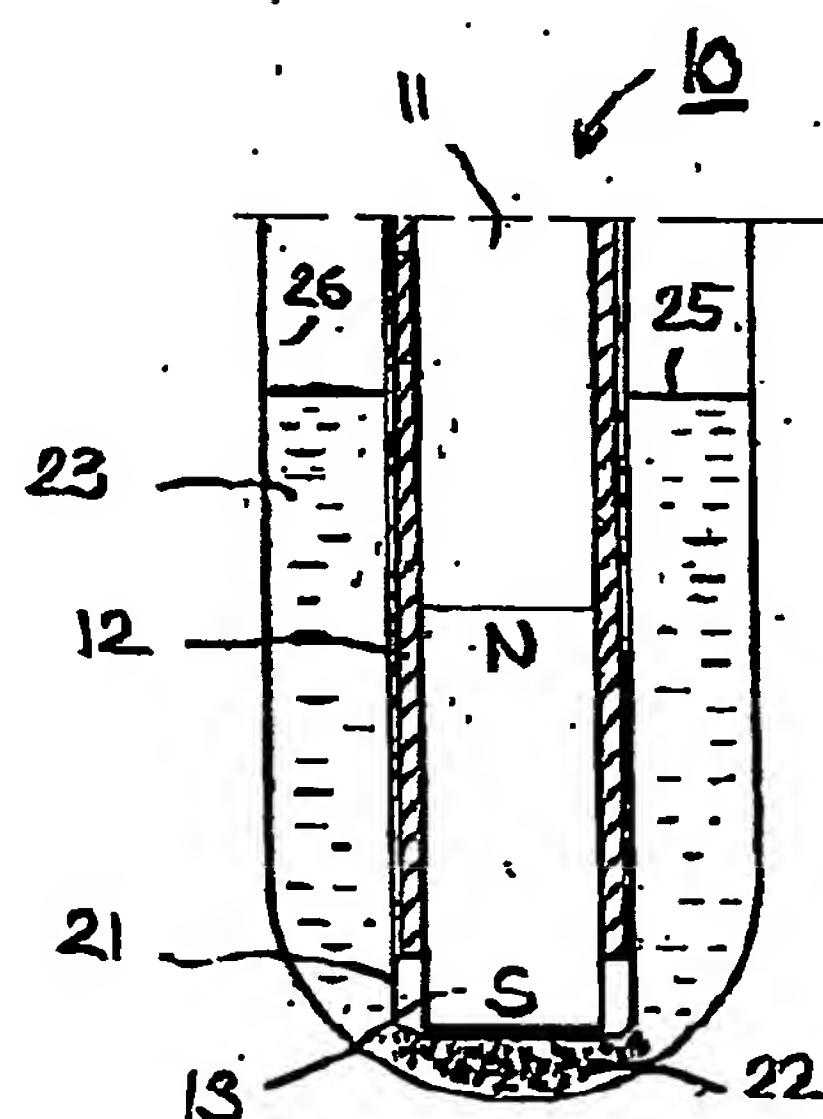


FIG. 5D

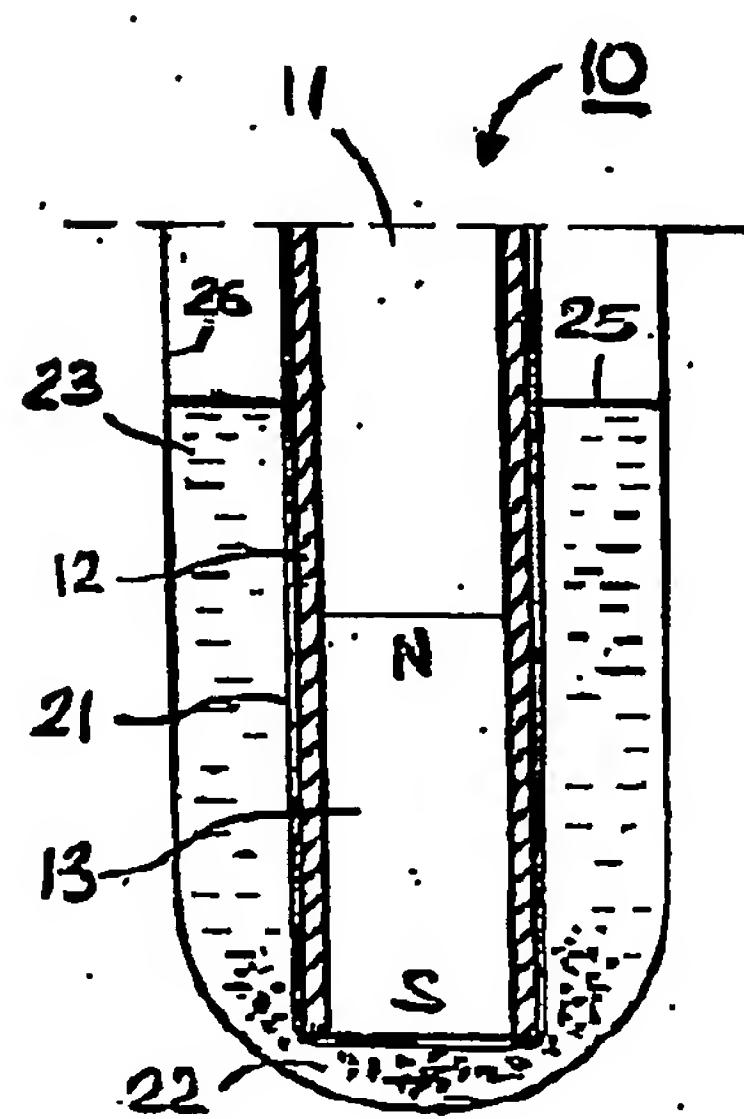


FIG. 5E

L2

7

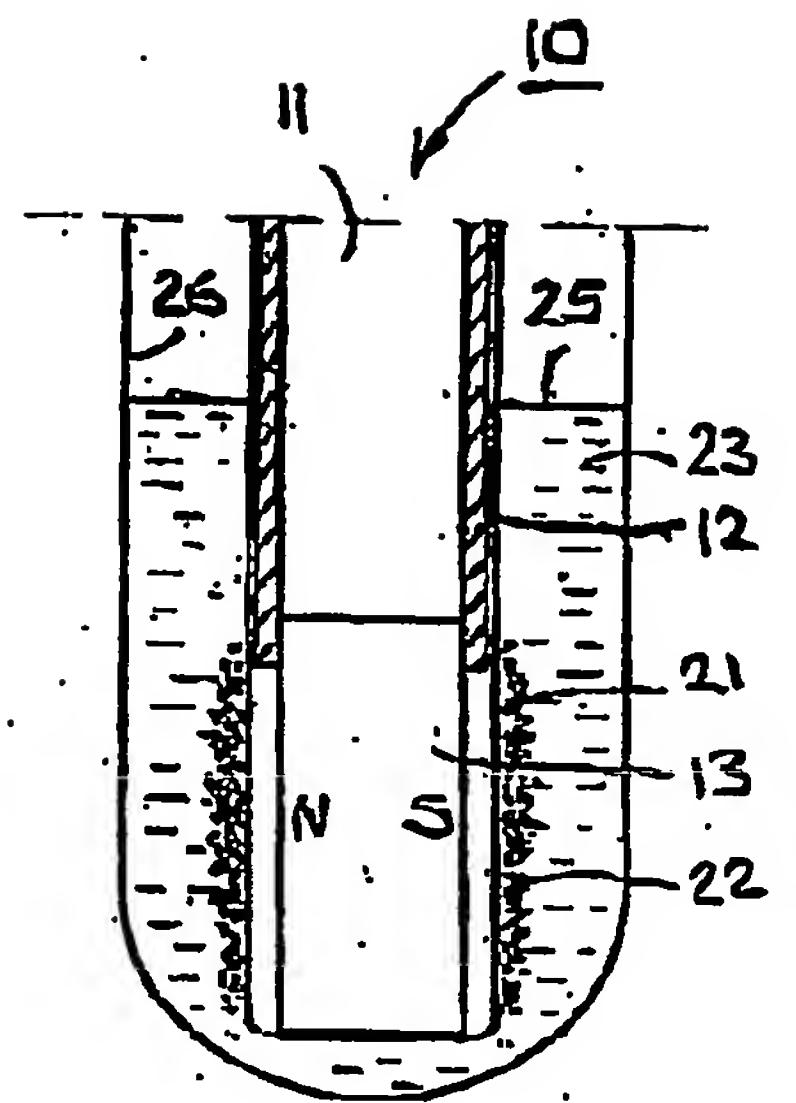


FIG. 6A

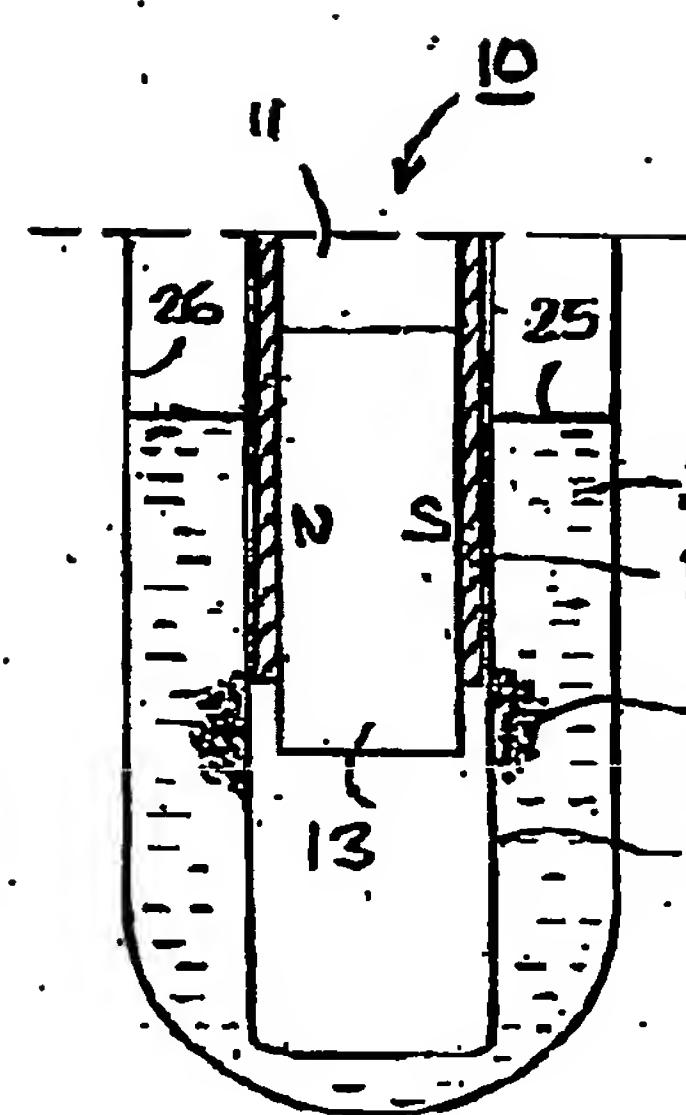


FIG. 6B

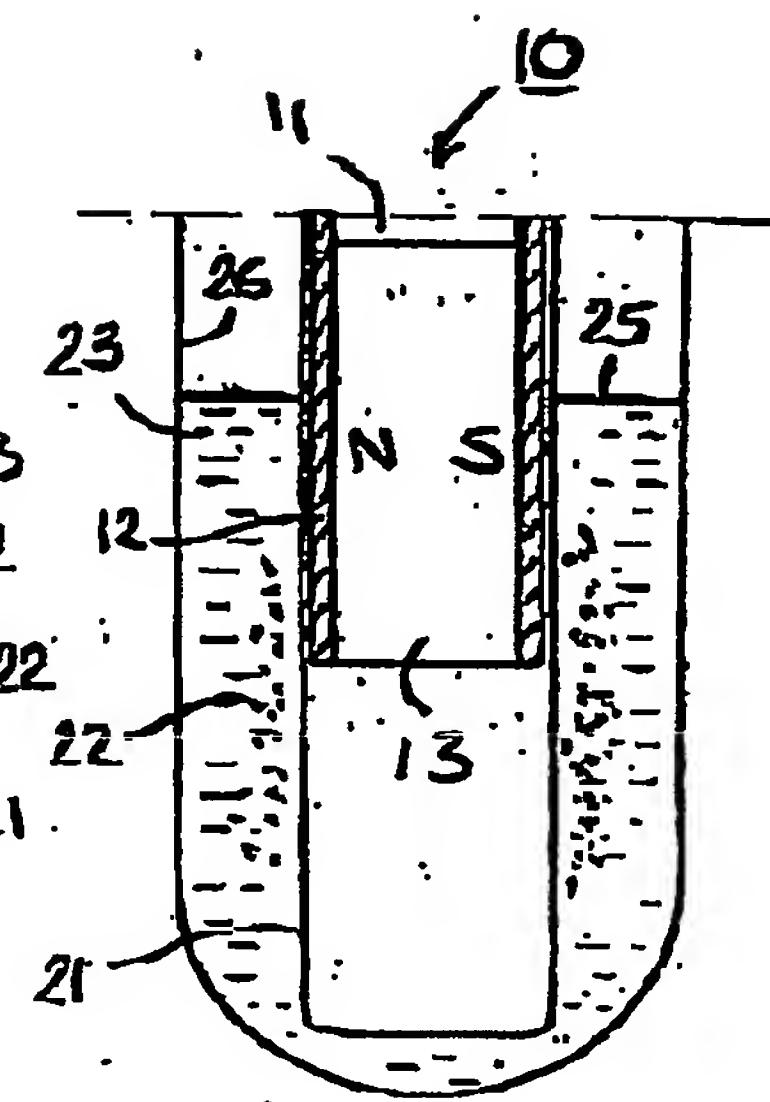


FIG. 6C

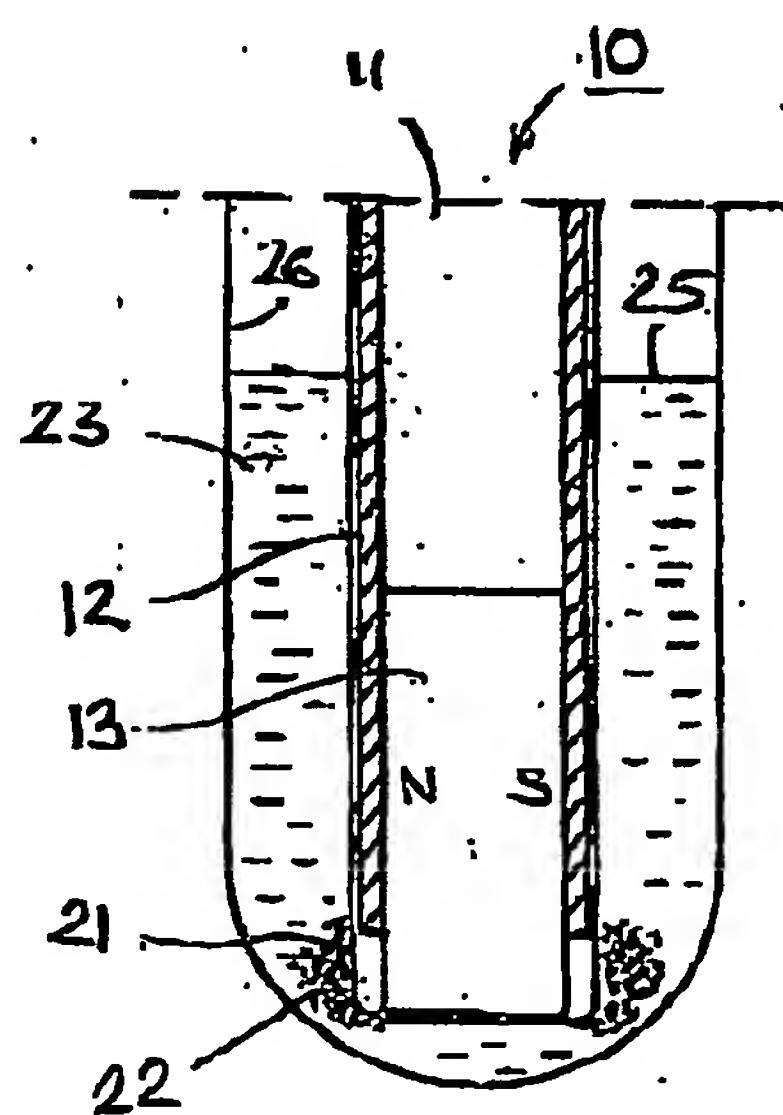


FIG. 6D

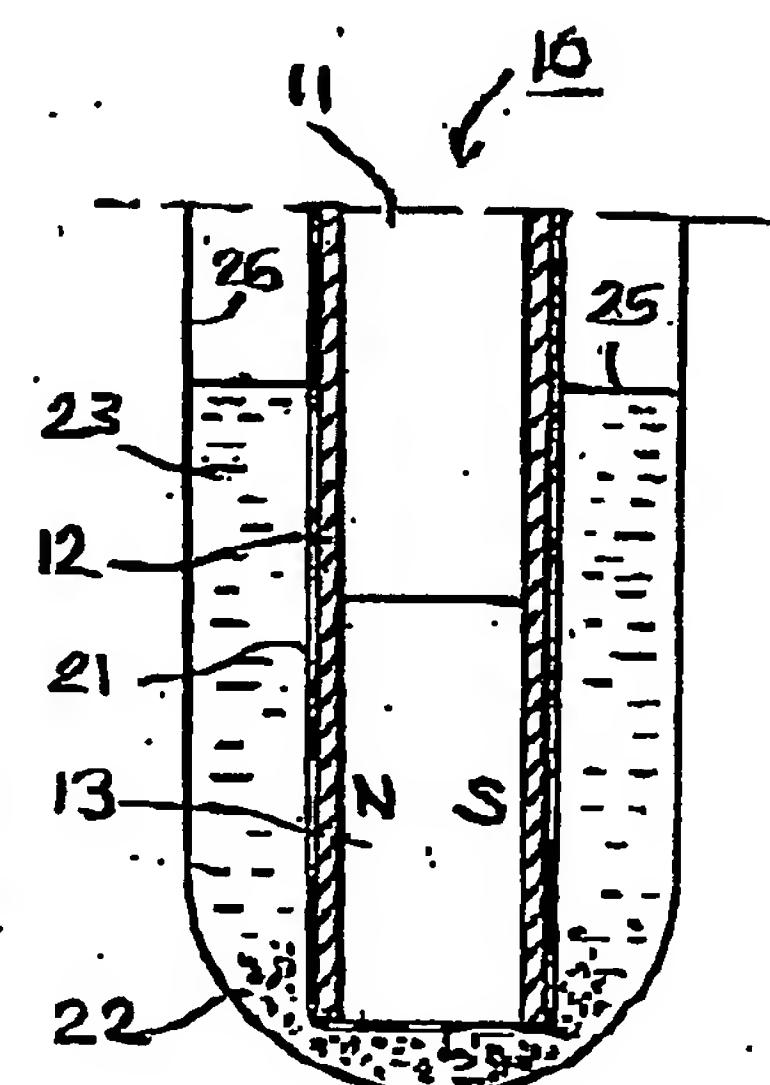


FIG. 6E

L2

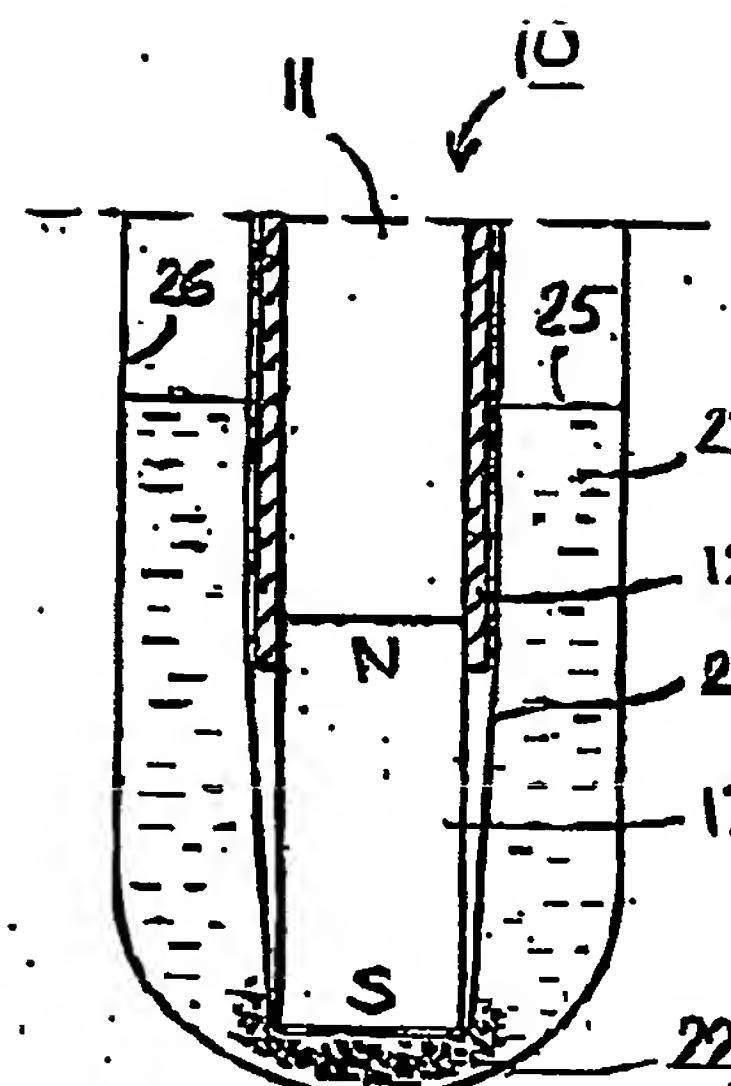


FIG. 7A

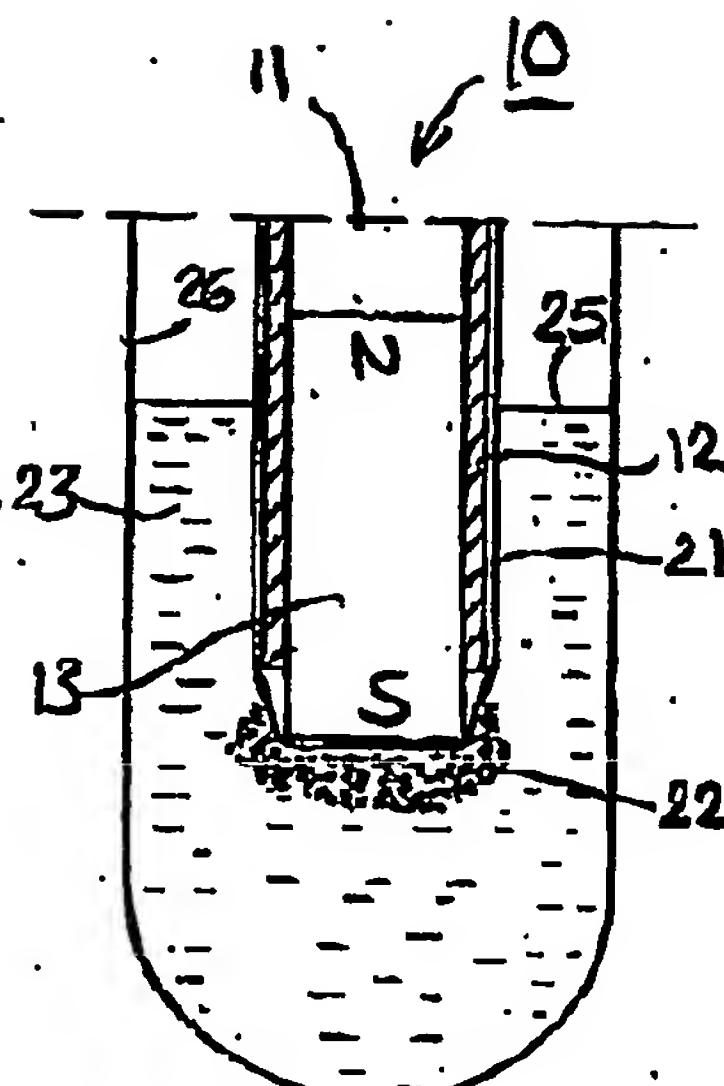


FIG. 7B

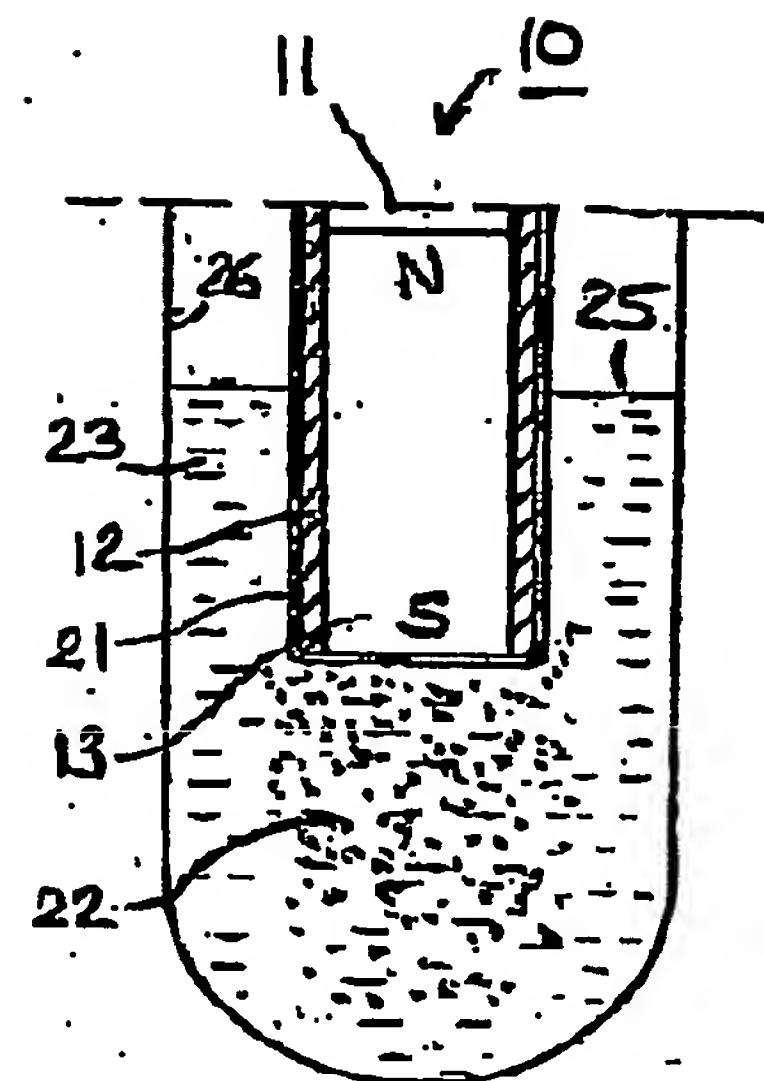


FIG. 7C

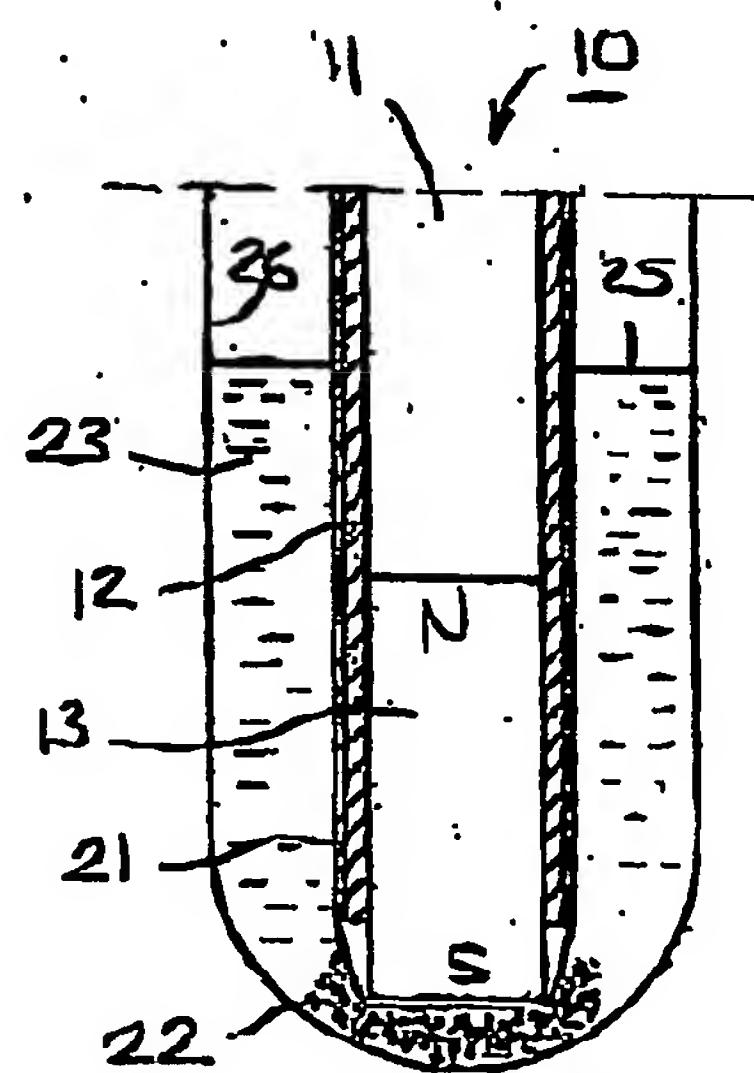


FIG. 7D

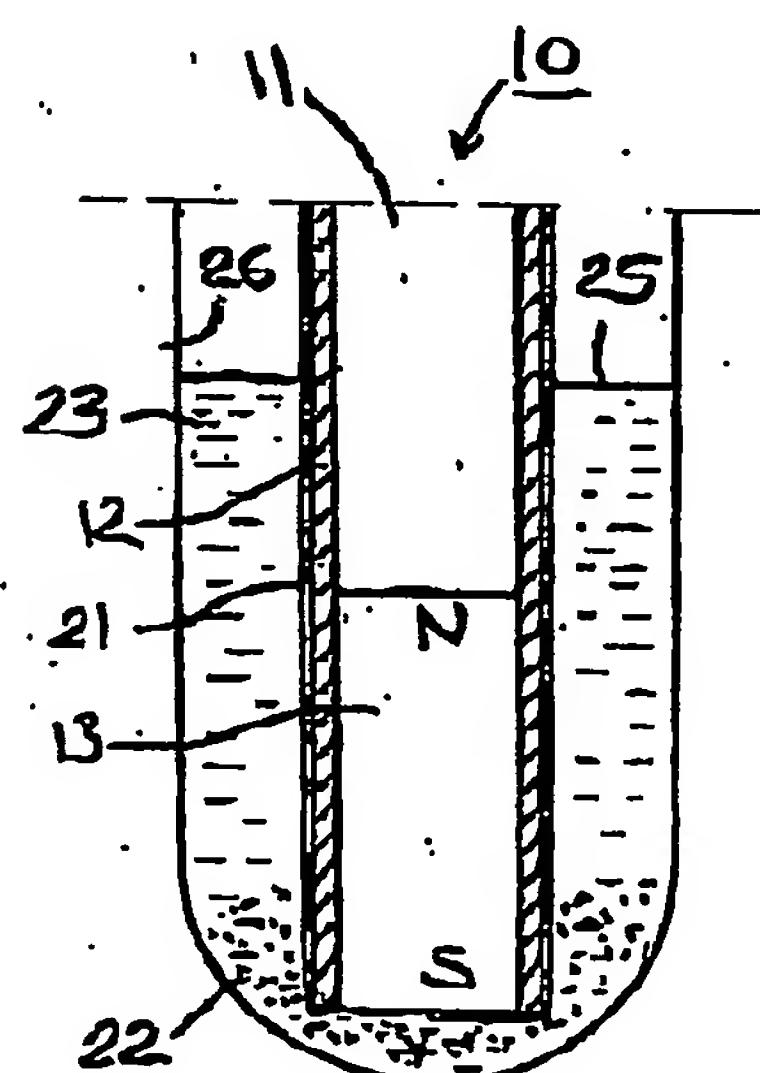


FIG. 7E

L 2

9

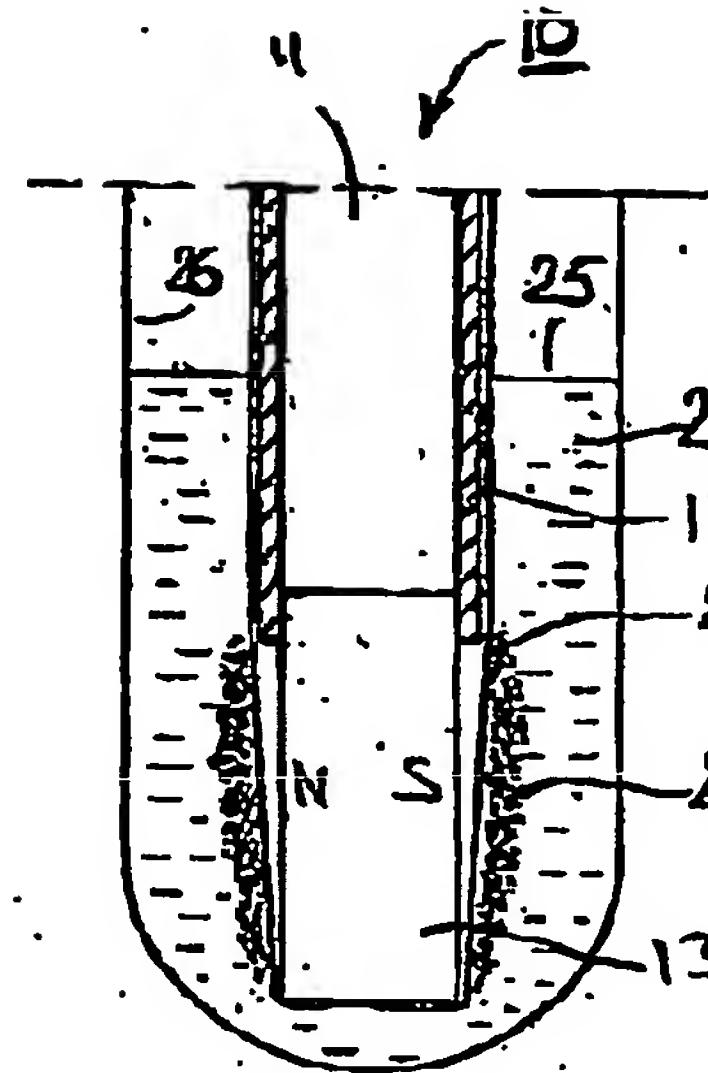


FIG. 8A

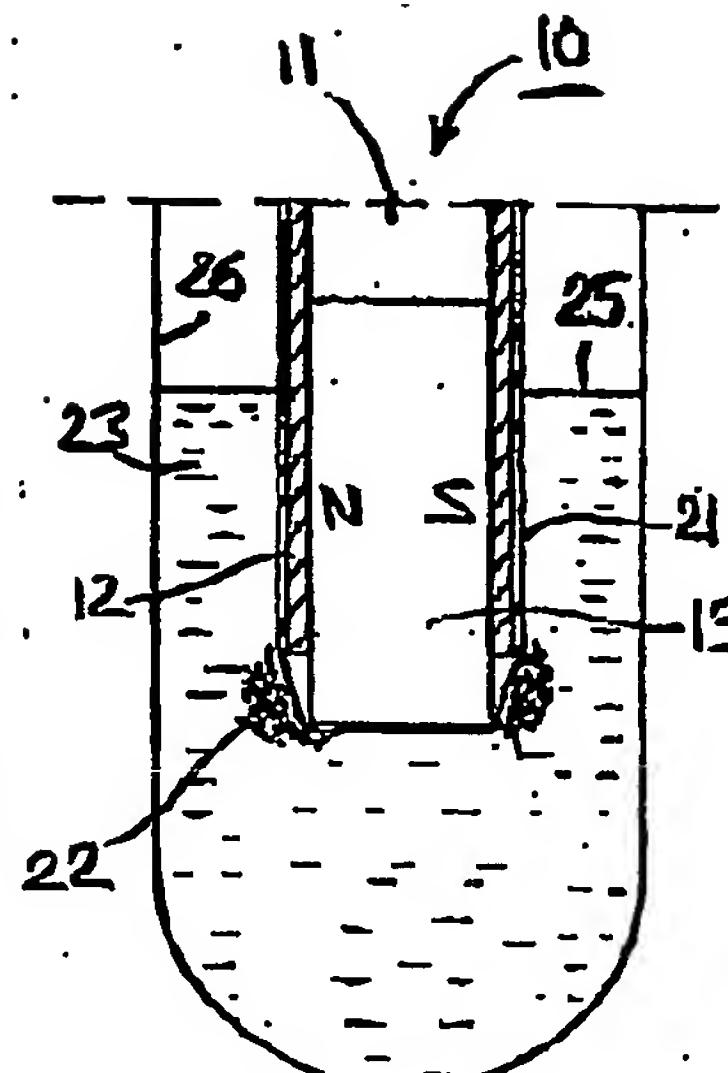


FIG. 8B

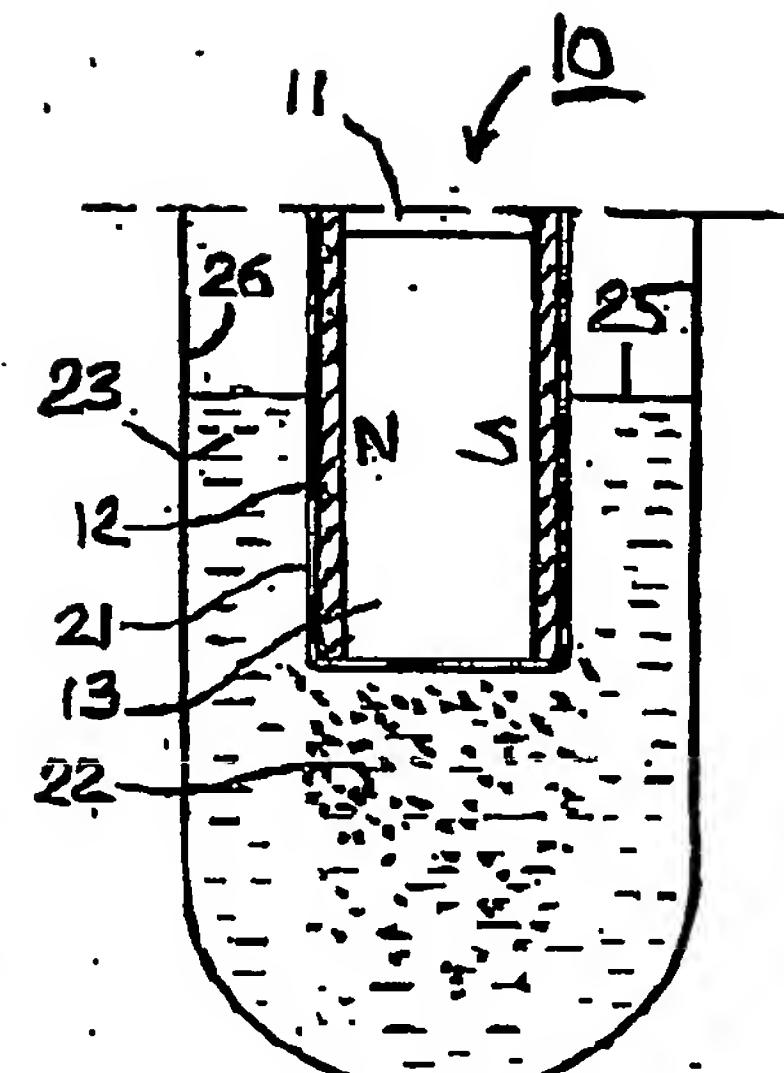


FIG. 8C

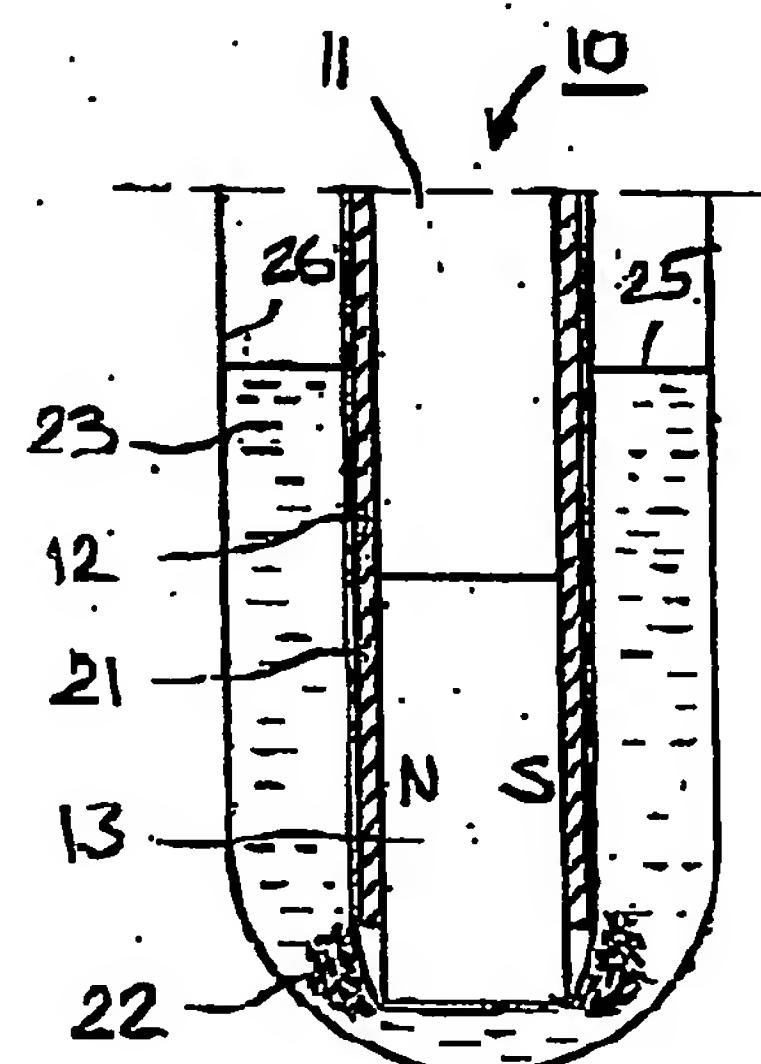


FIG. 8D

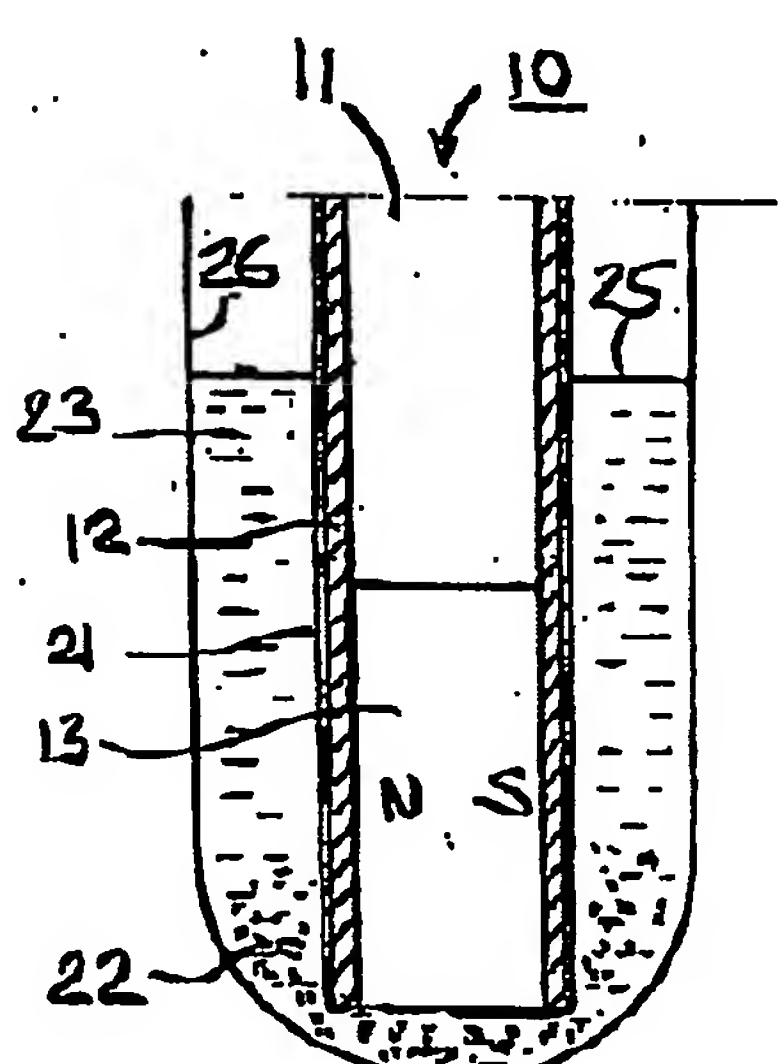


FIG. 8E

L 2

10

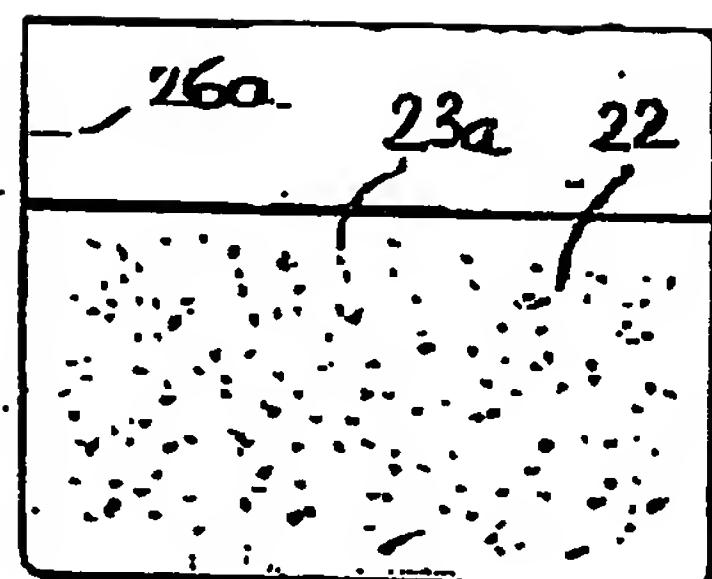


FIG. 9A

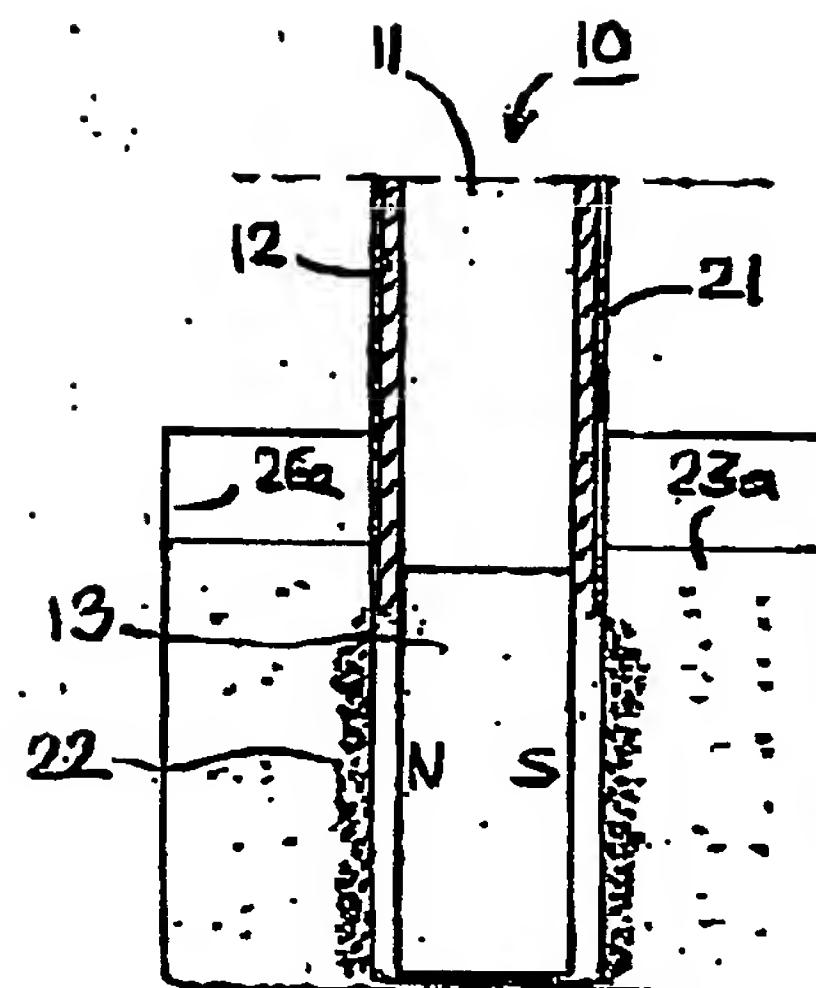


FIG. 9B

2 2

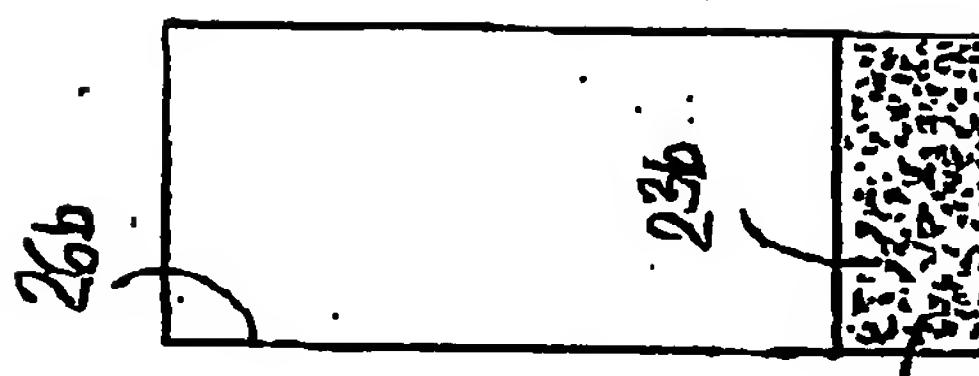


FIG. 9G

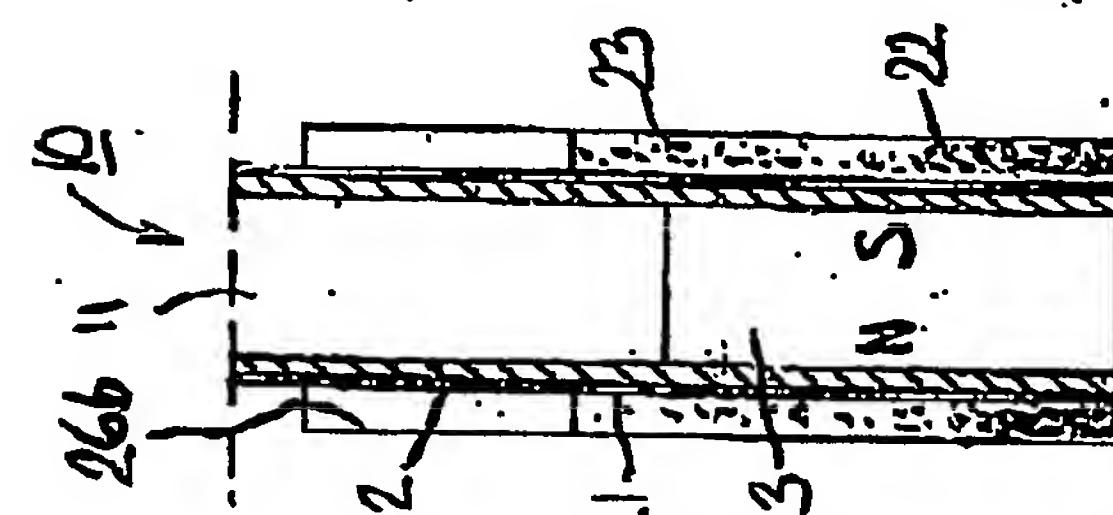


FIG. 9F

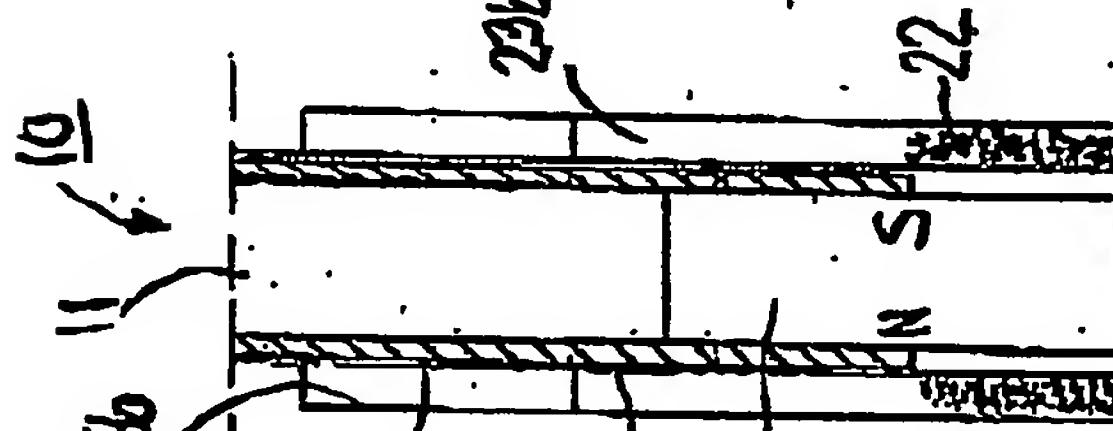


FIG. 9E

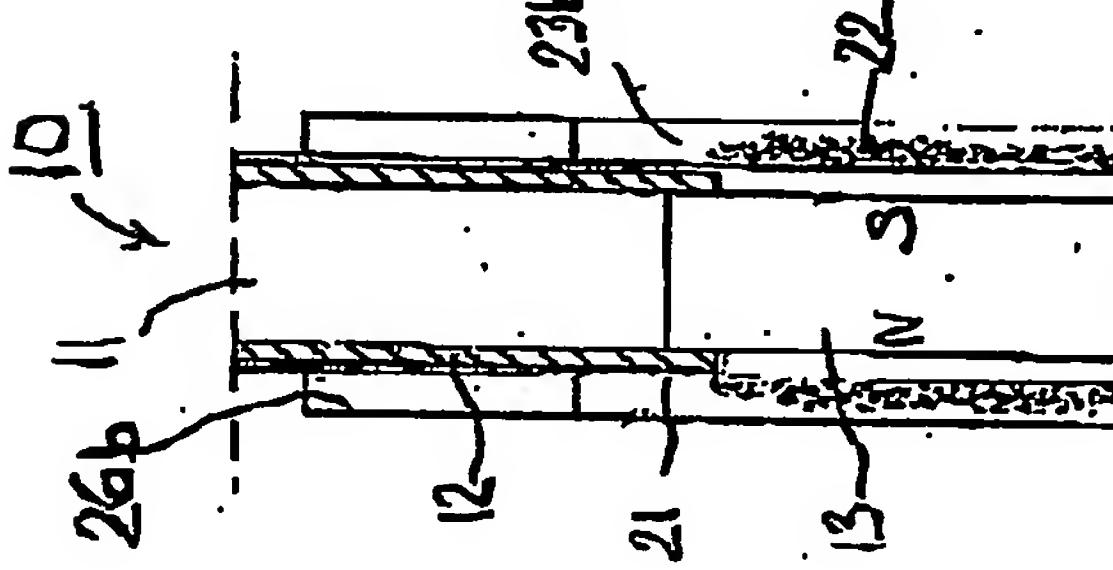


FIG. 9D

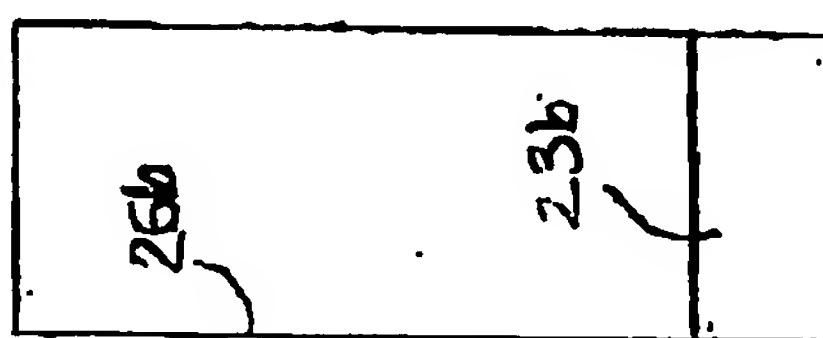


FIG. 9C

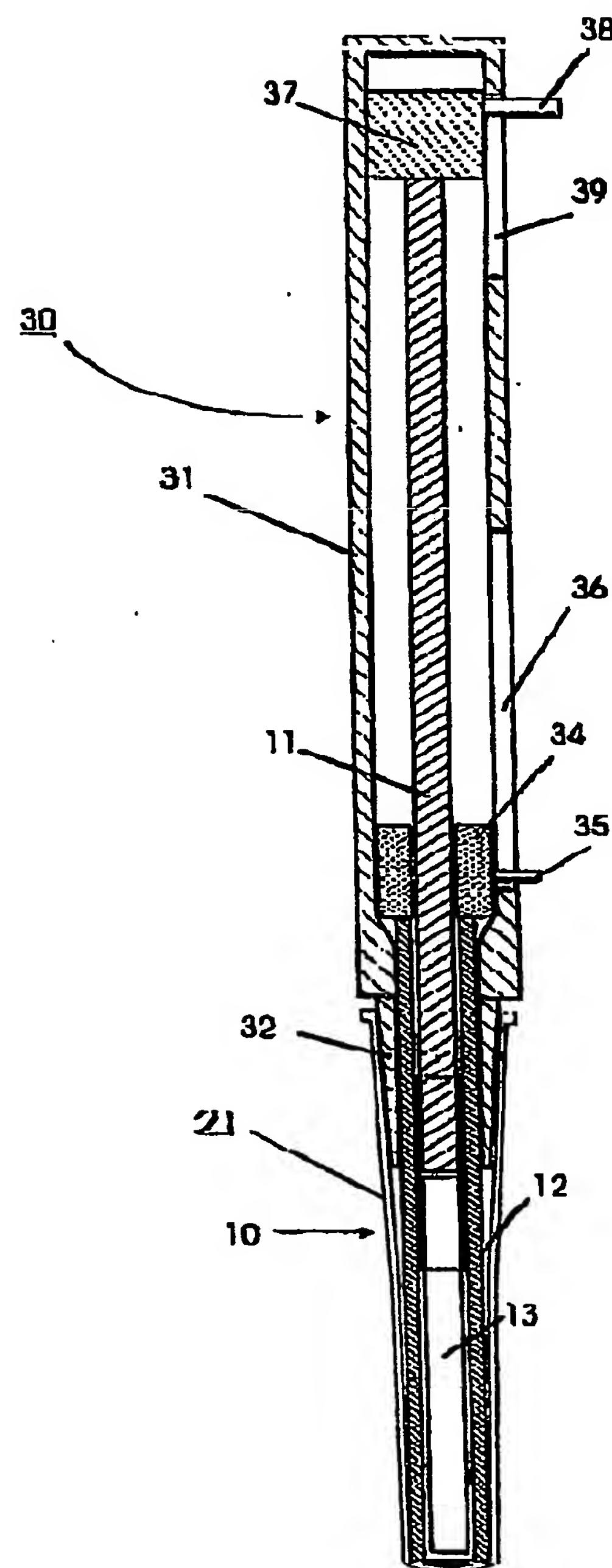


Fig. 10

L 2

13

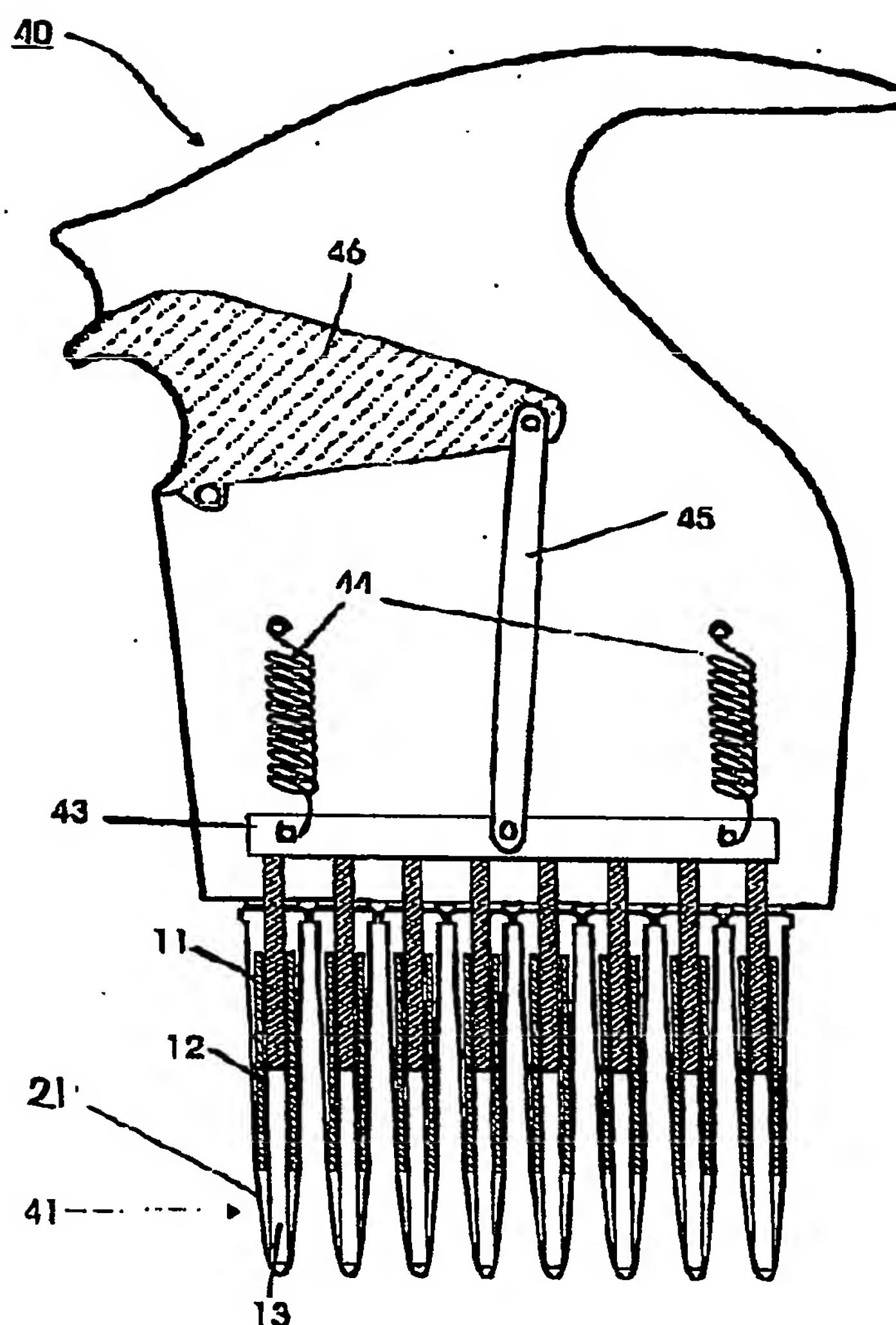


Fig. 11

L2

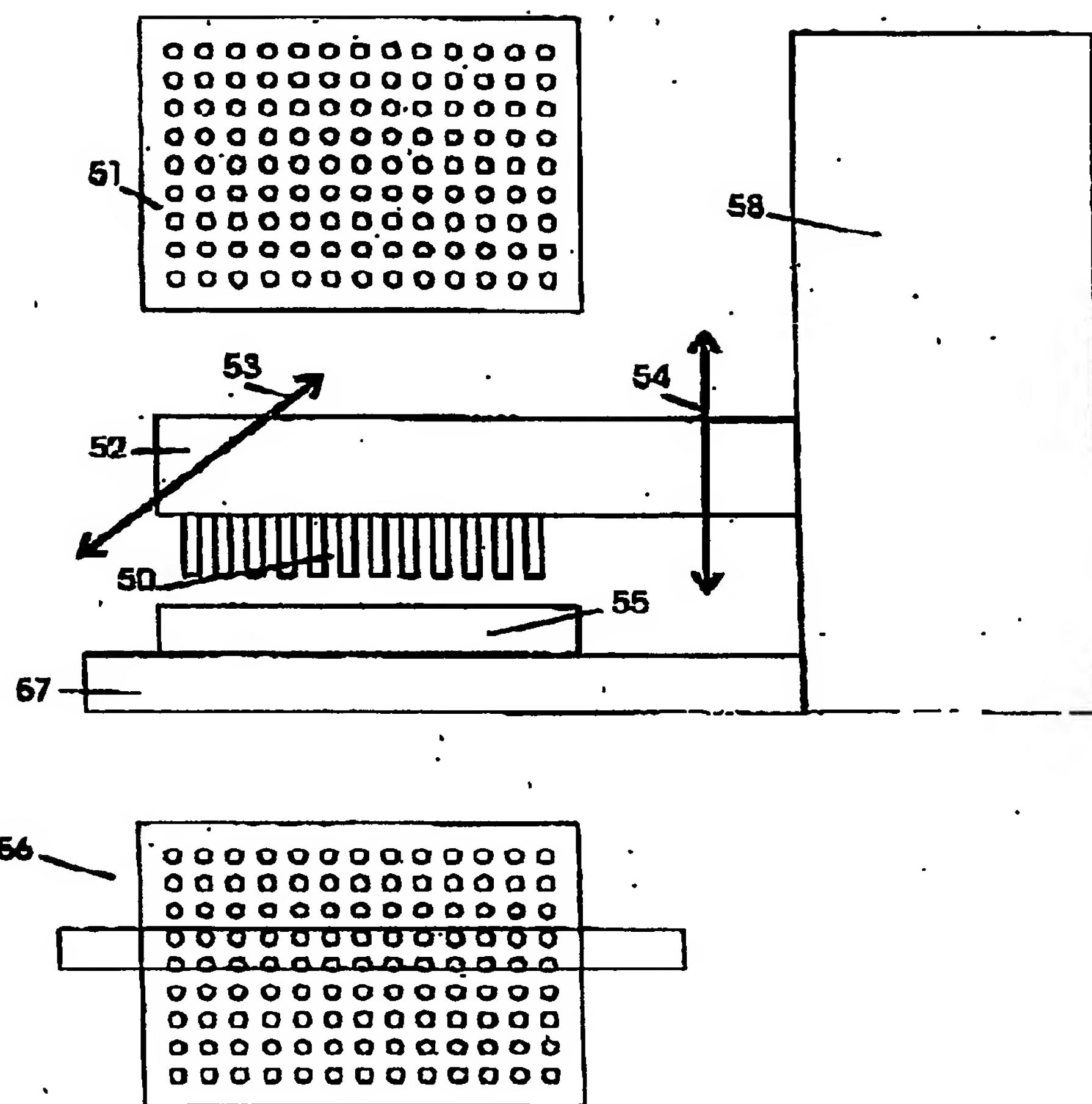


Fig. 12

L 2

15

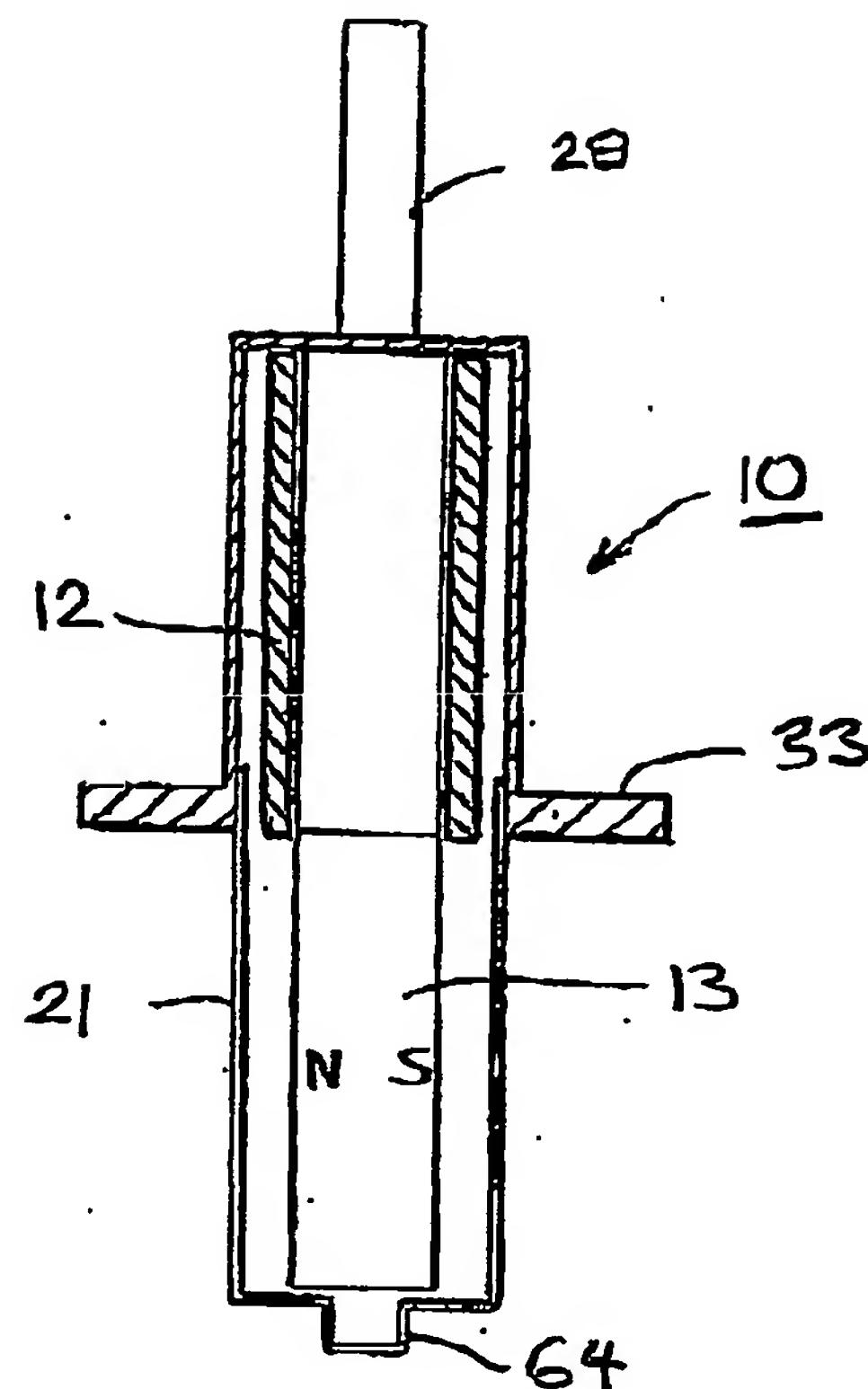


FIG. 13

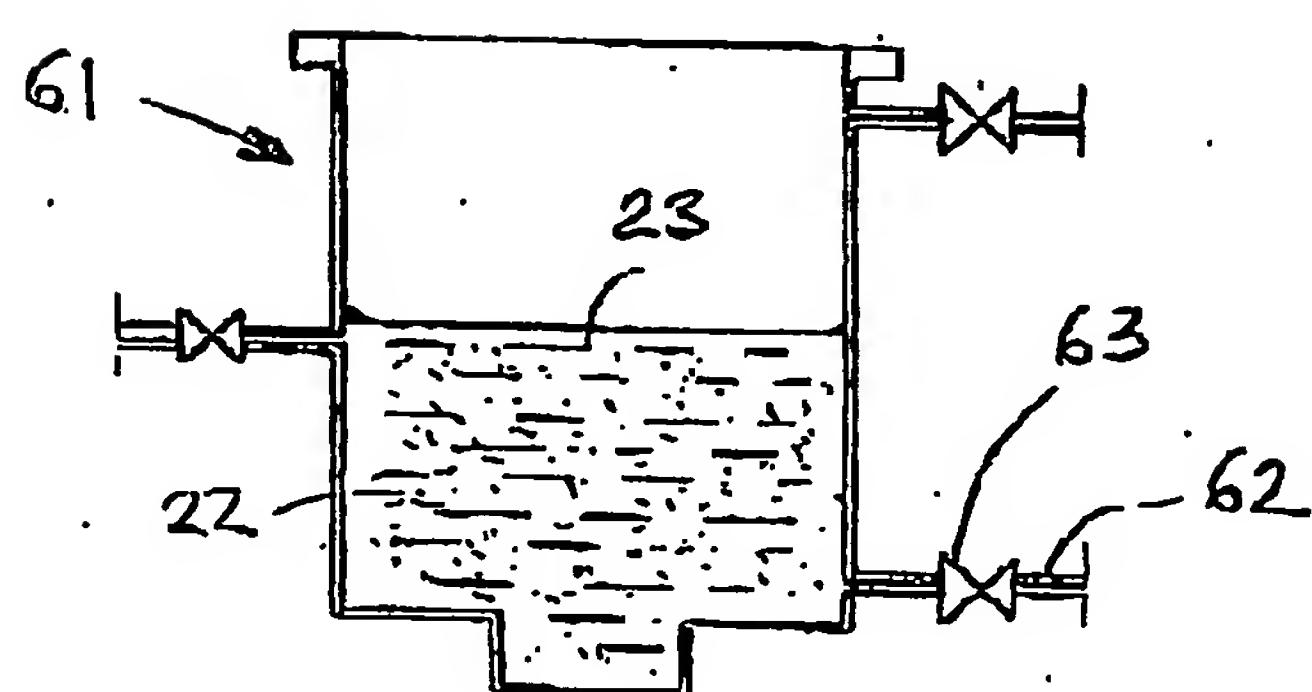


FIG. 14

L 2

16

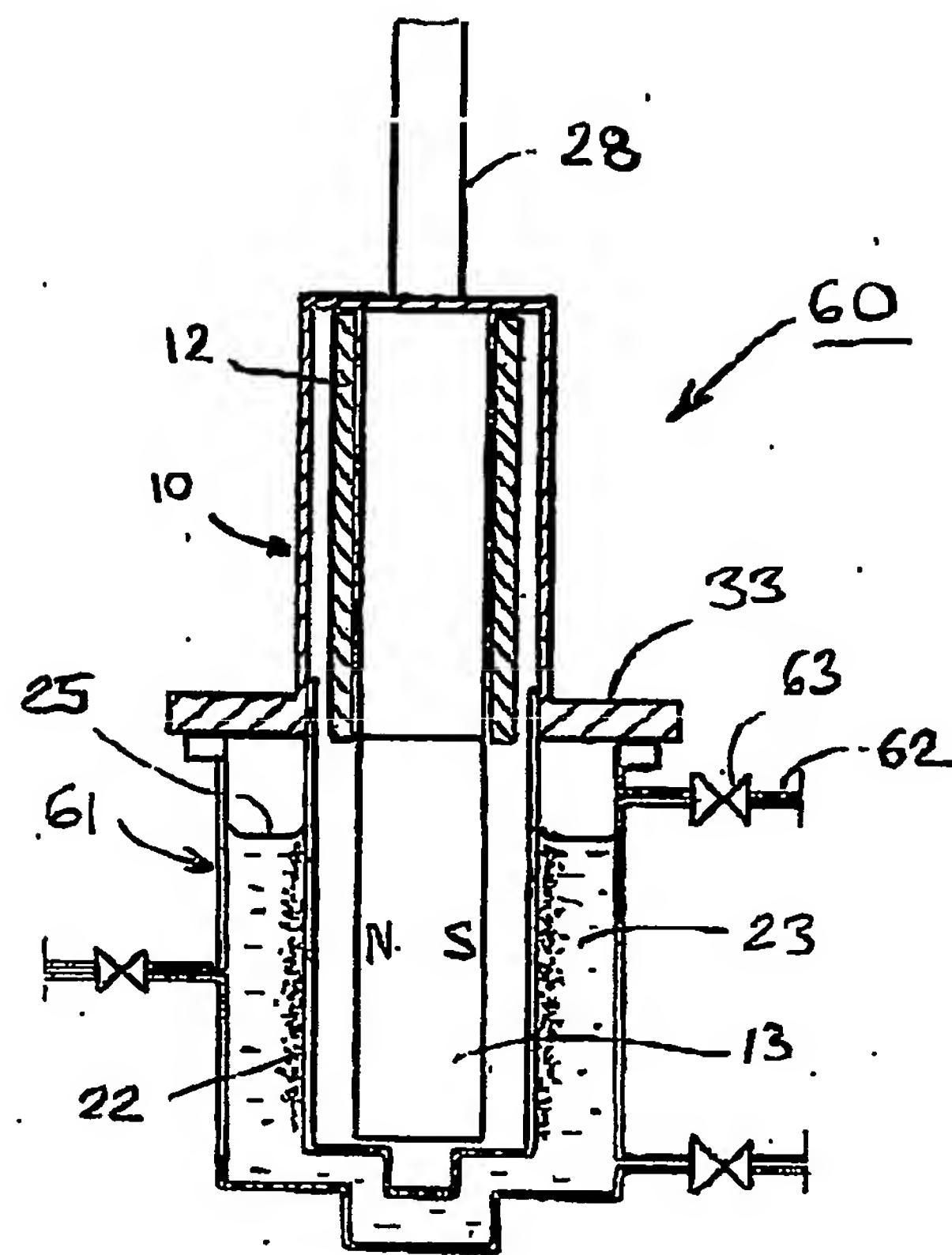


FIG. 15

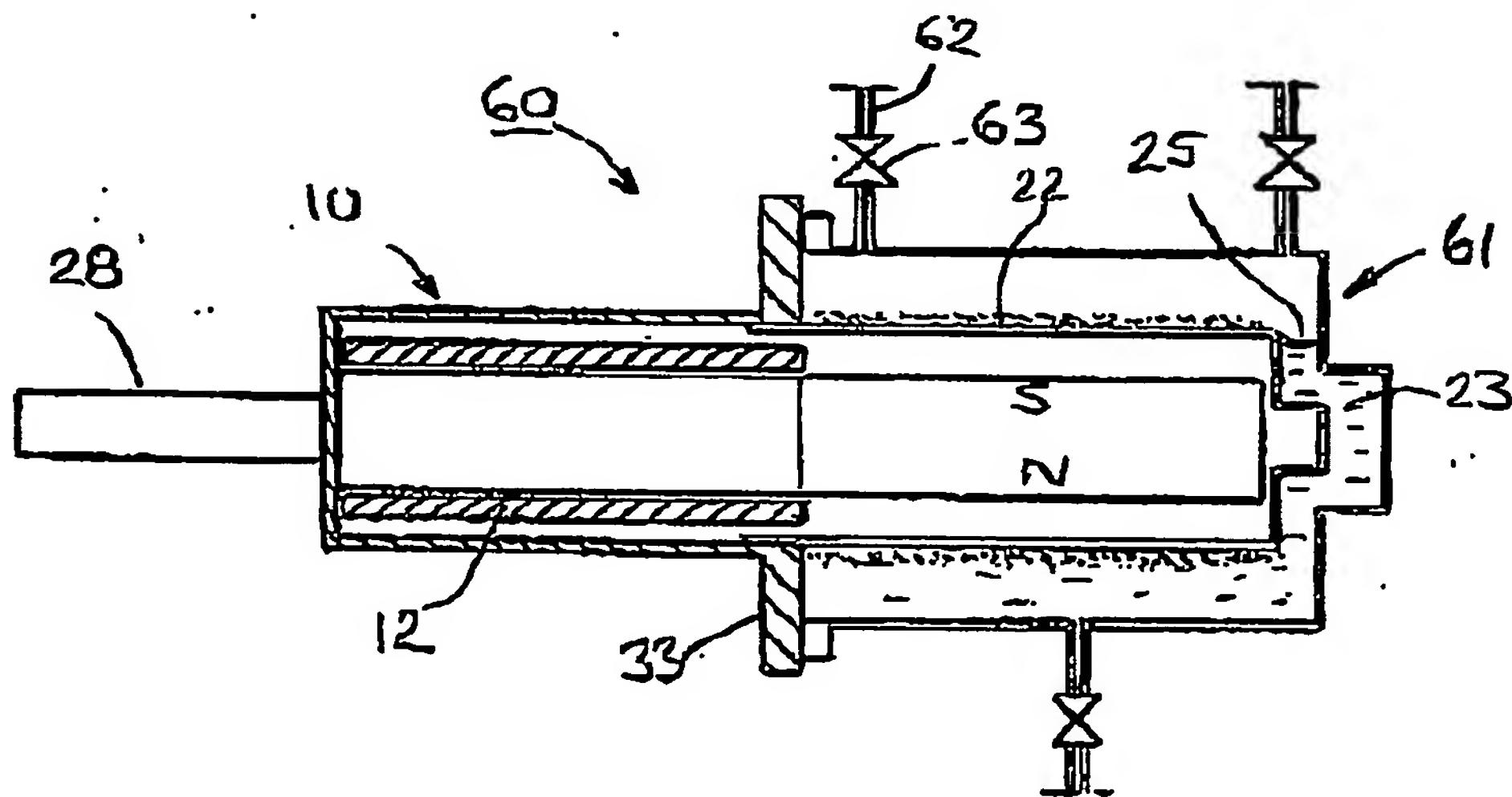


FIG. 16

L2

17

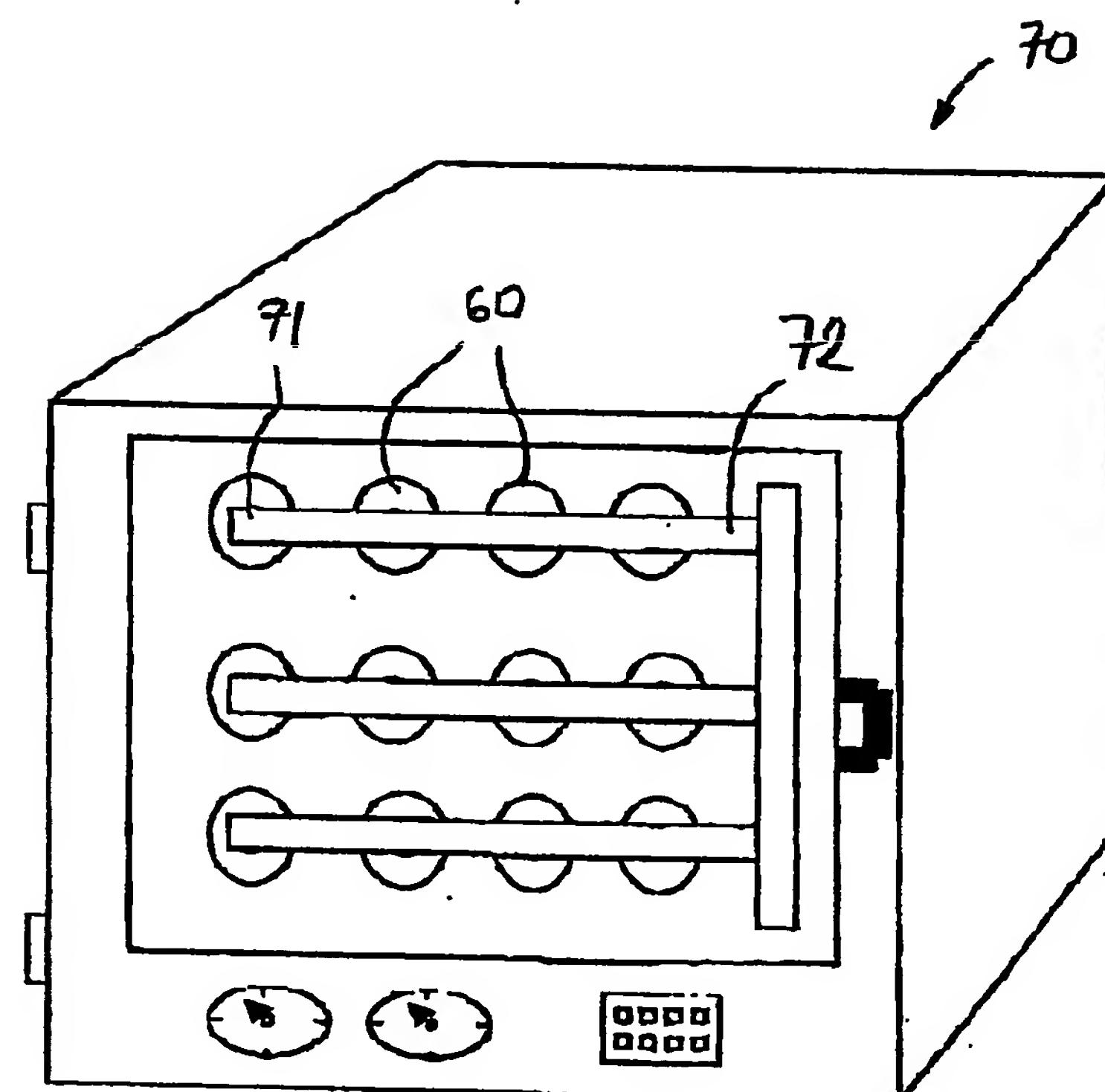


FIG. 17

L2

18

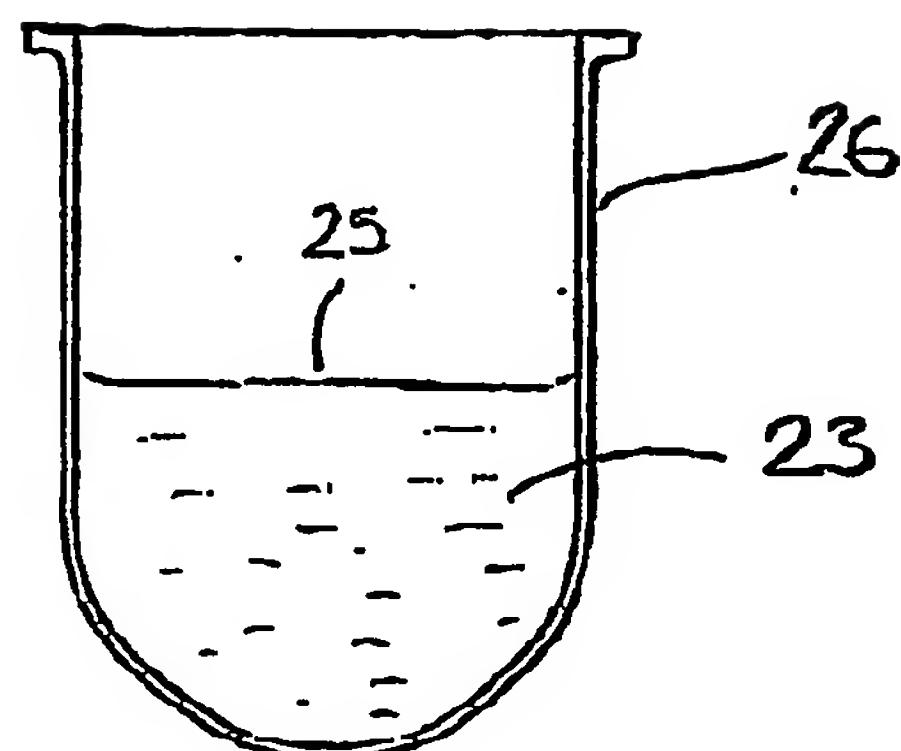


FIG. 18

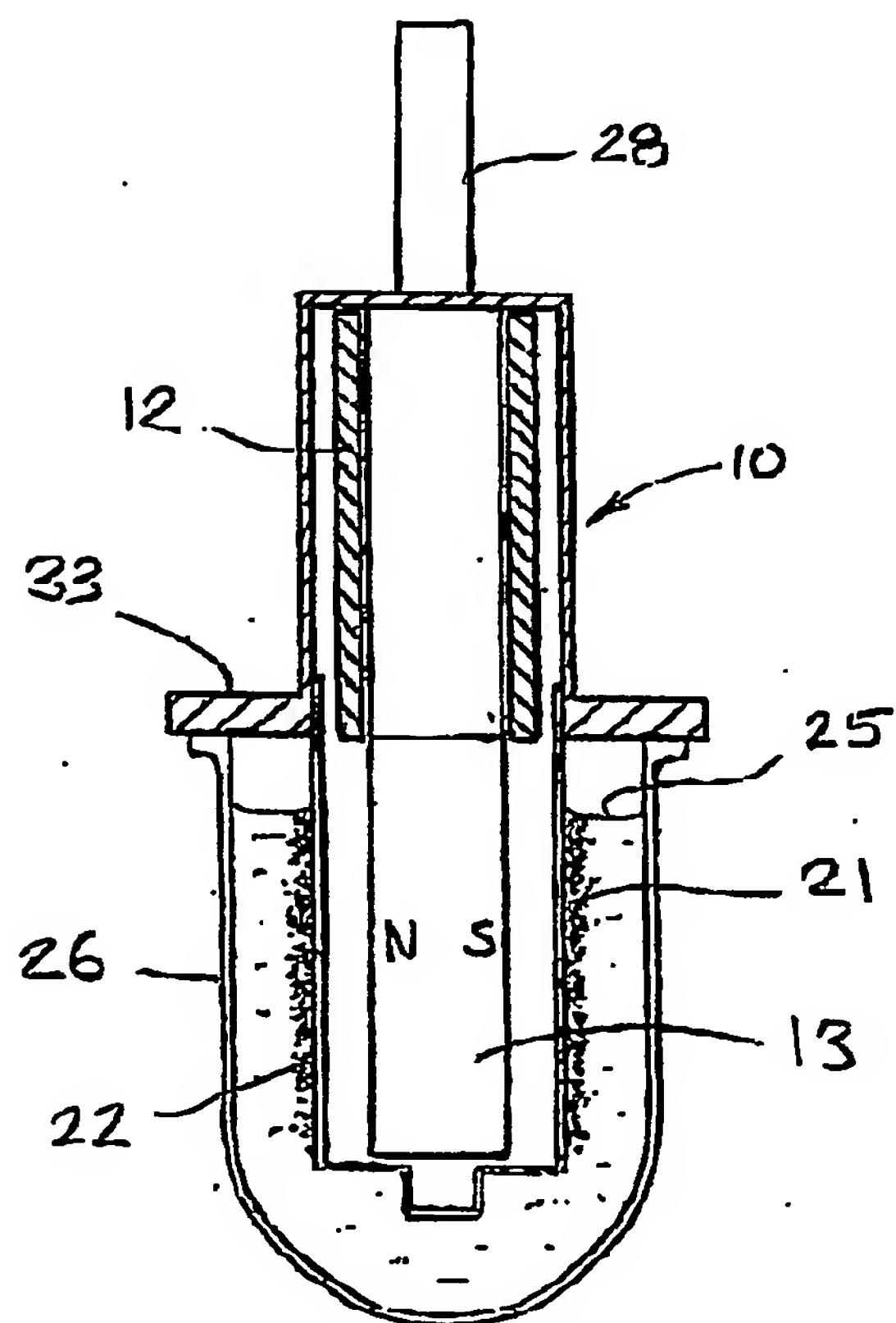


FIG. 19

L 2

19

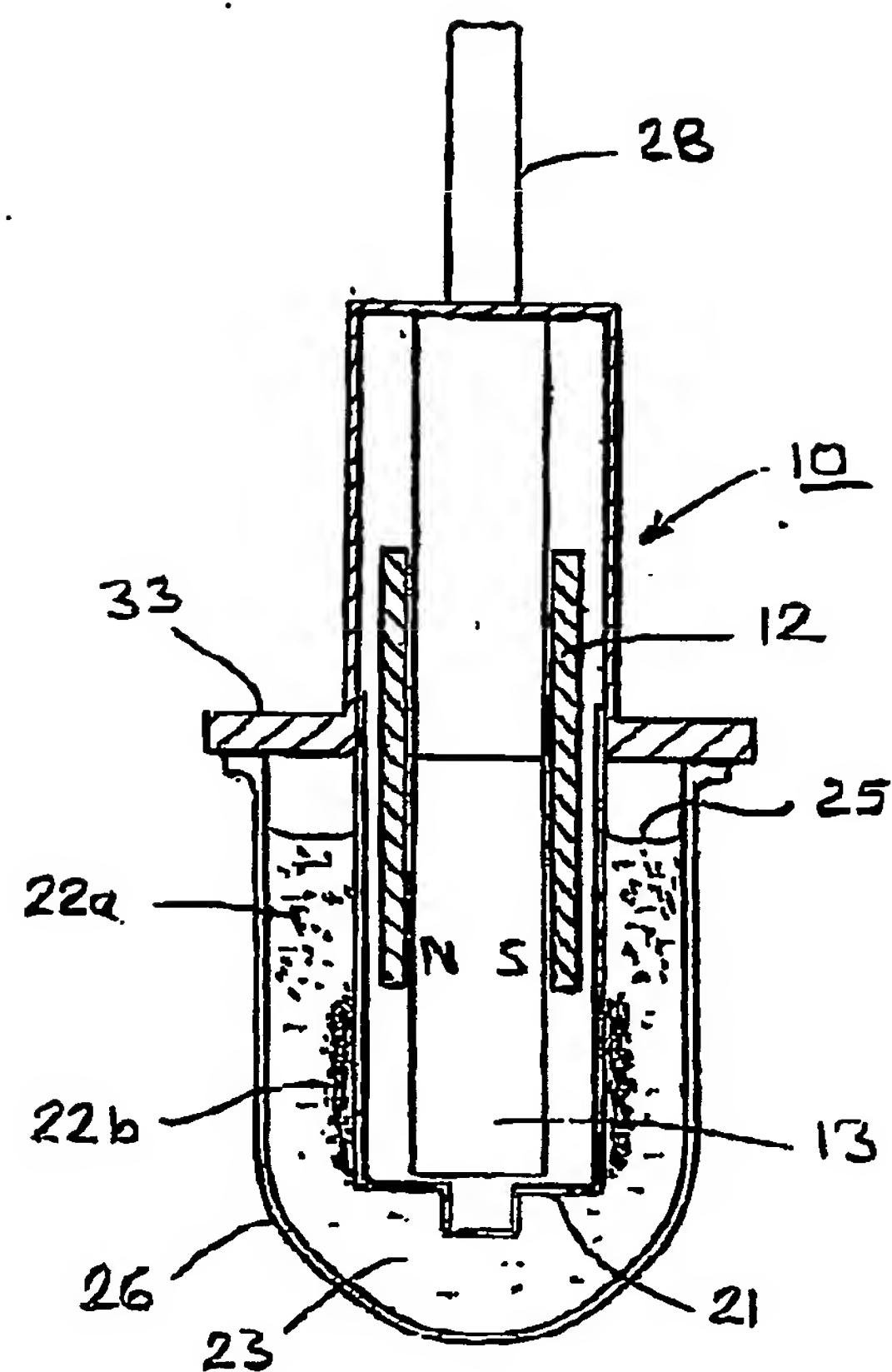


FIG. 20

20

L2

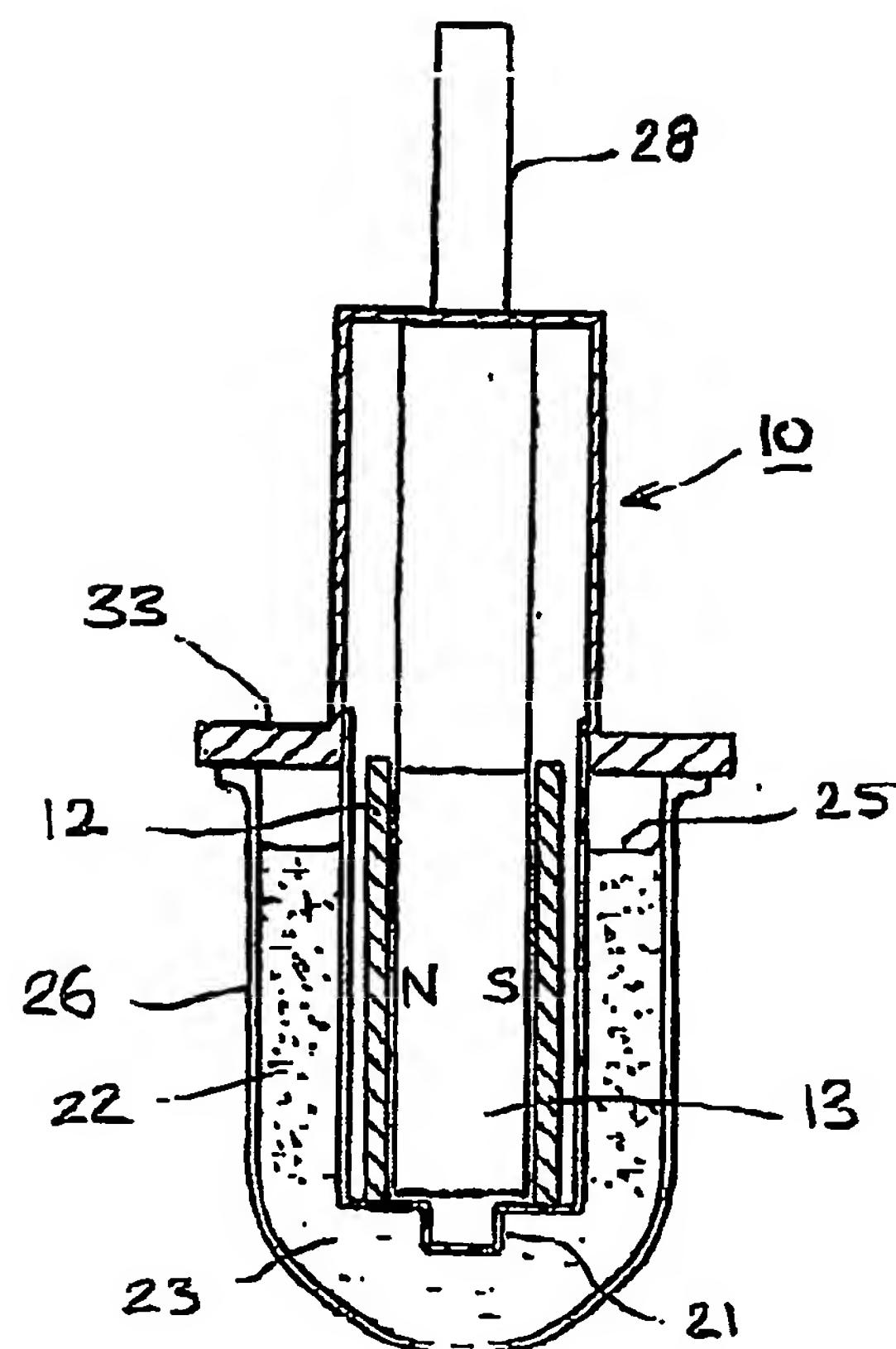


FIG. 21

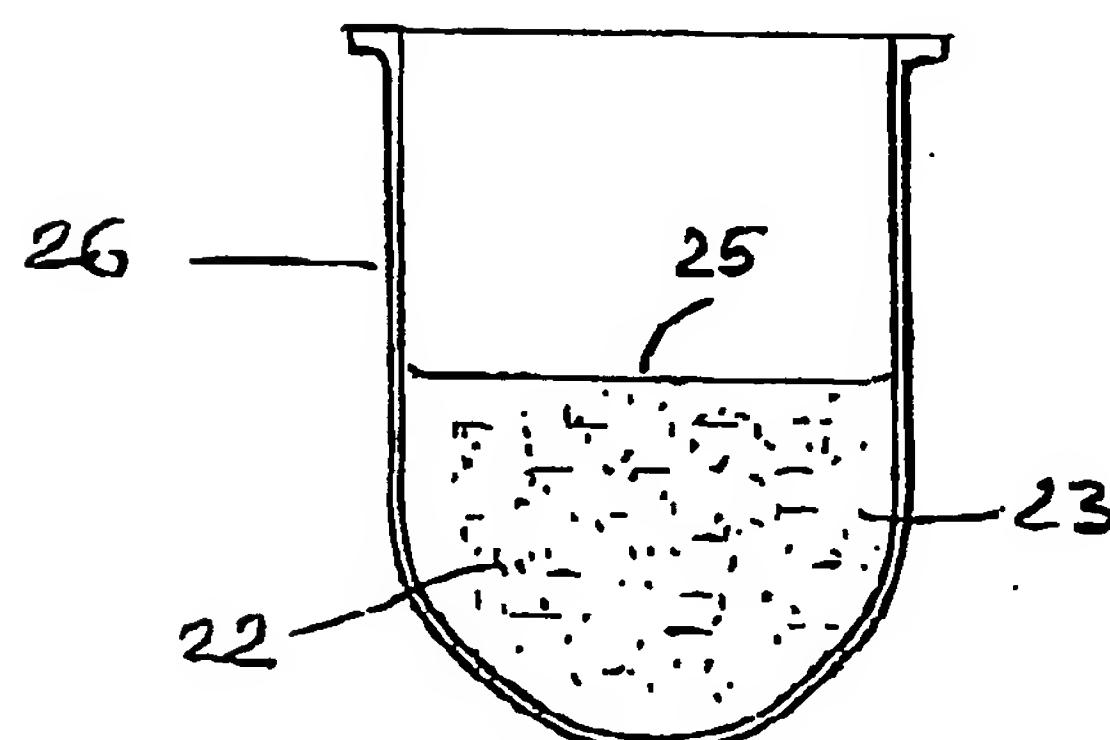


FIG. 22

L 2

21

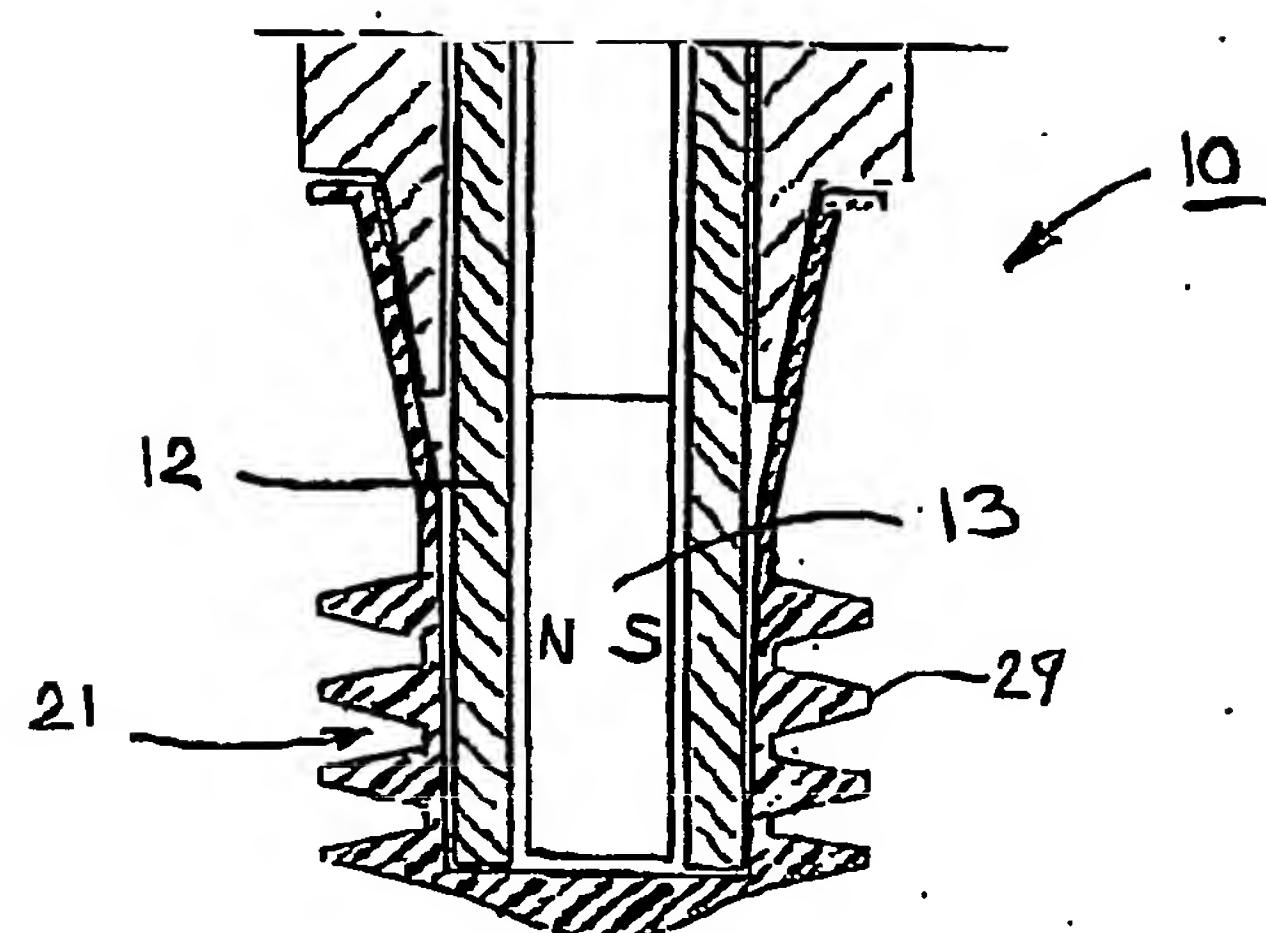


FIG. 23

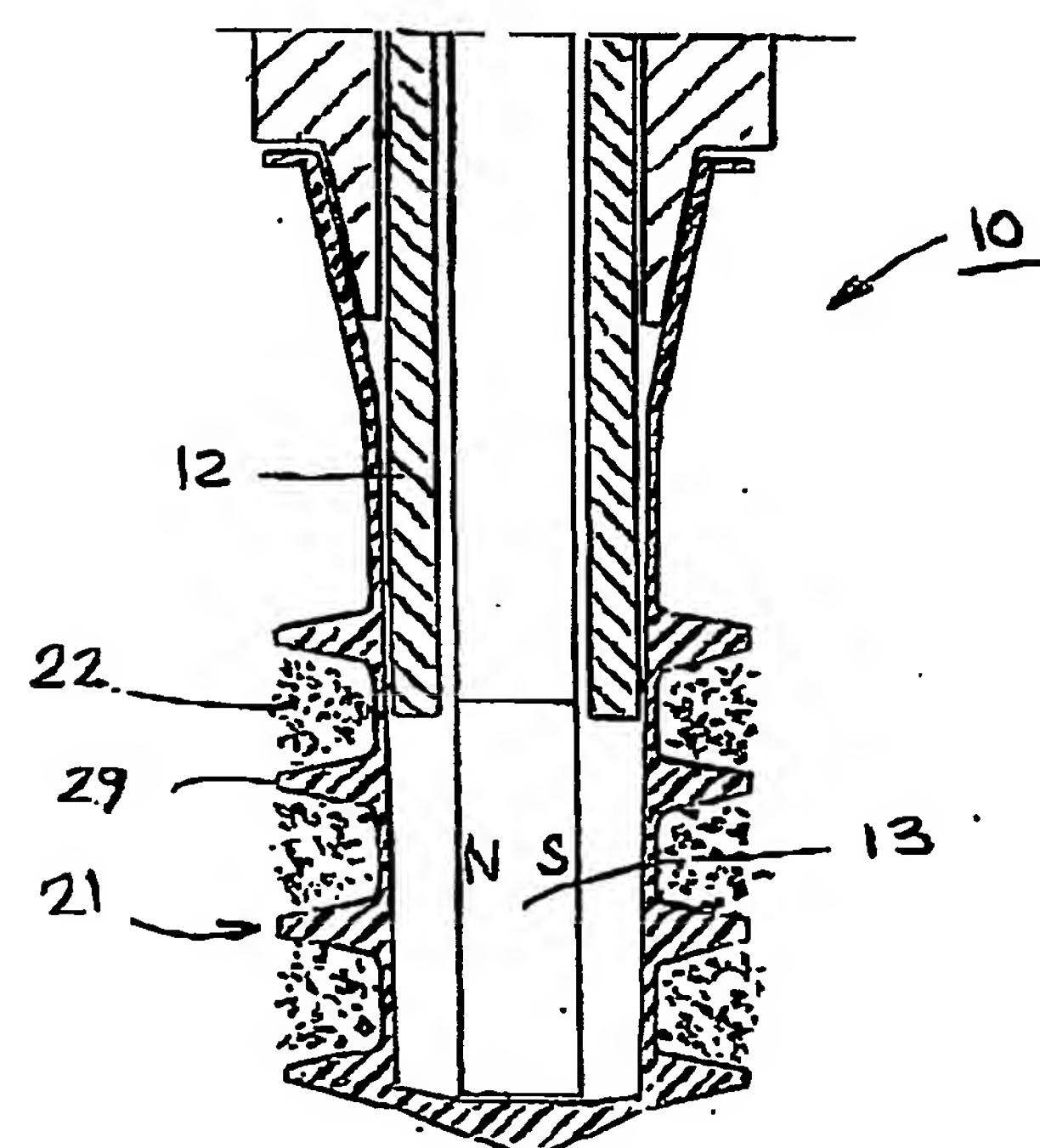
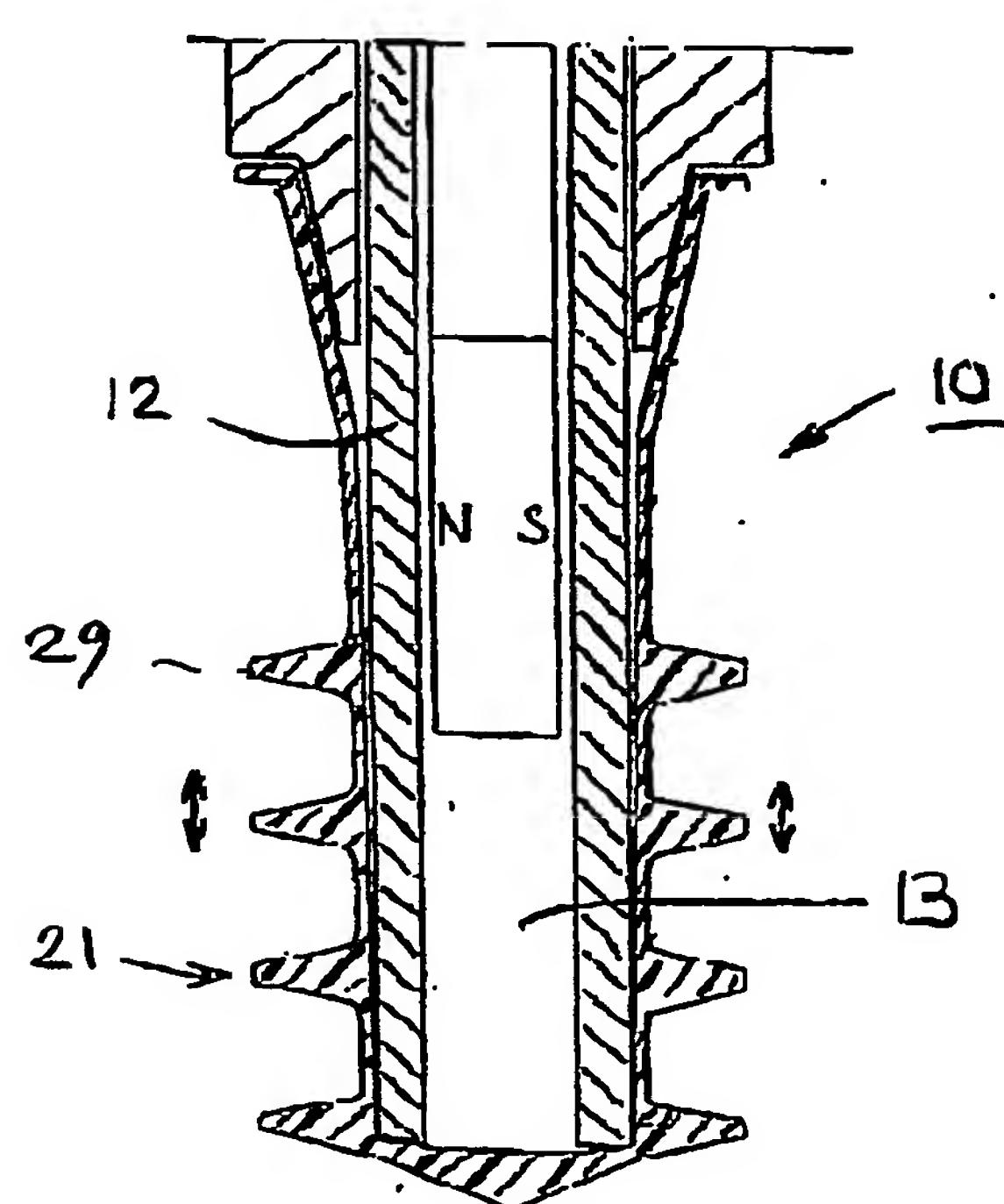
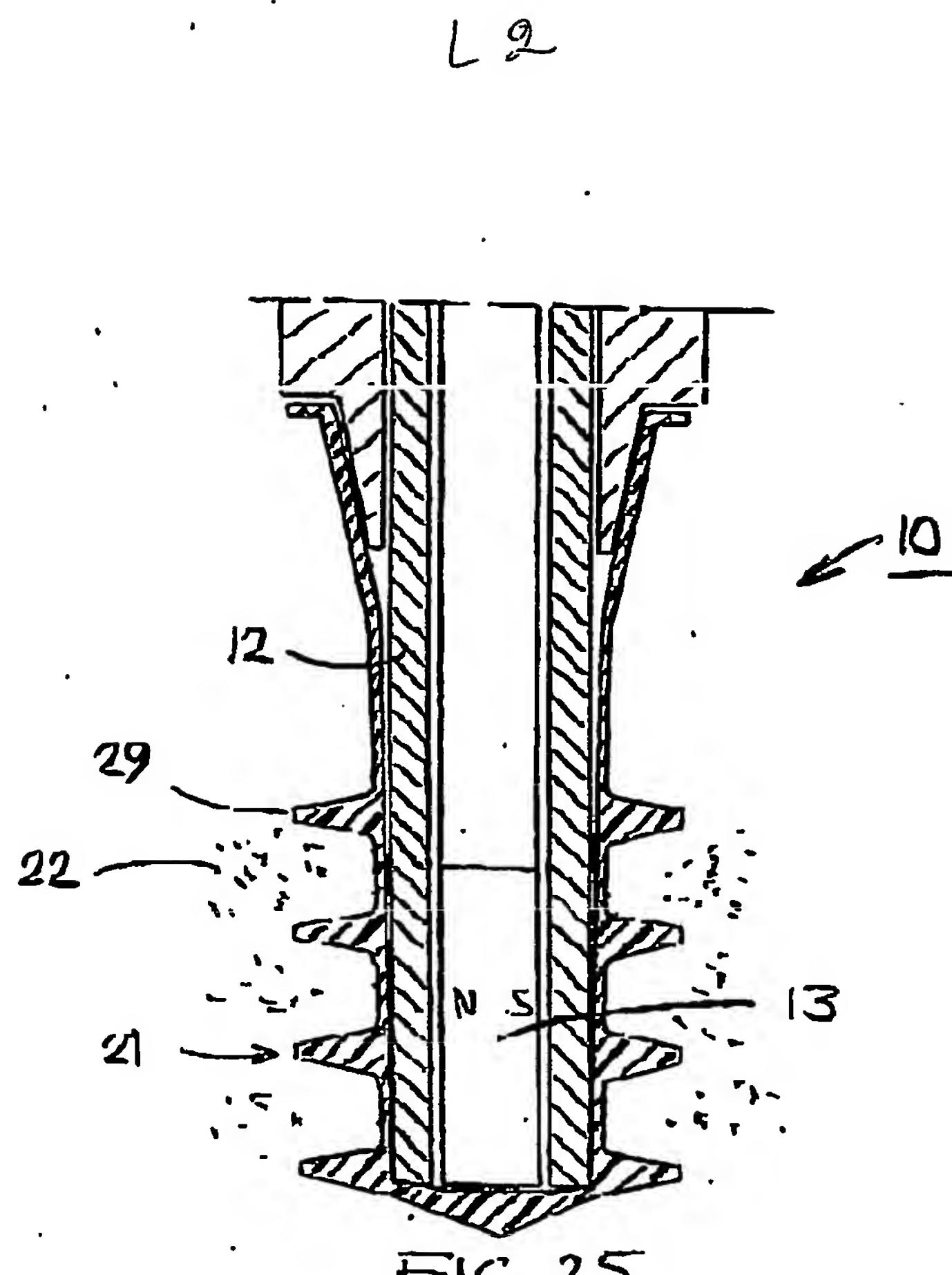


FIG. 24



L 2

A 3

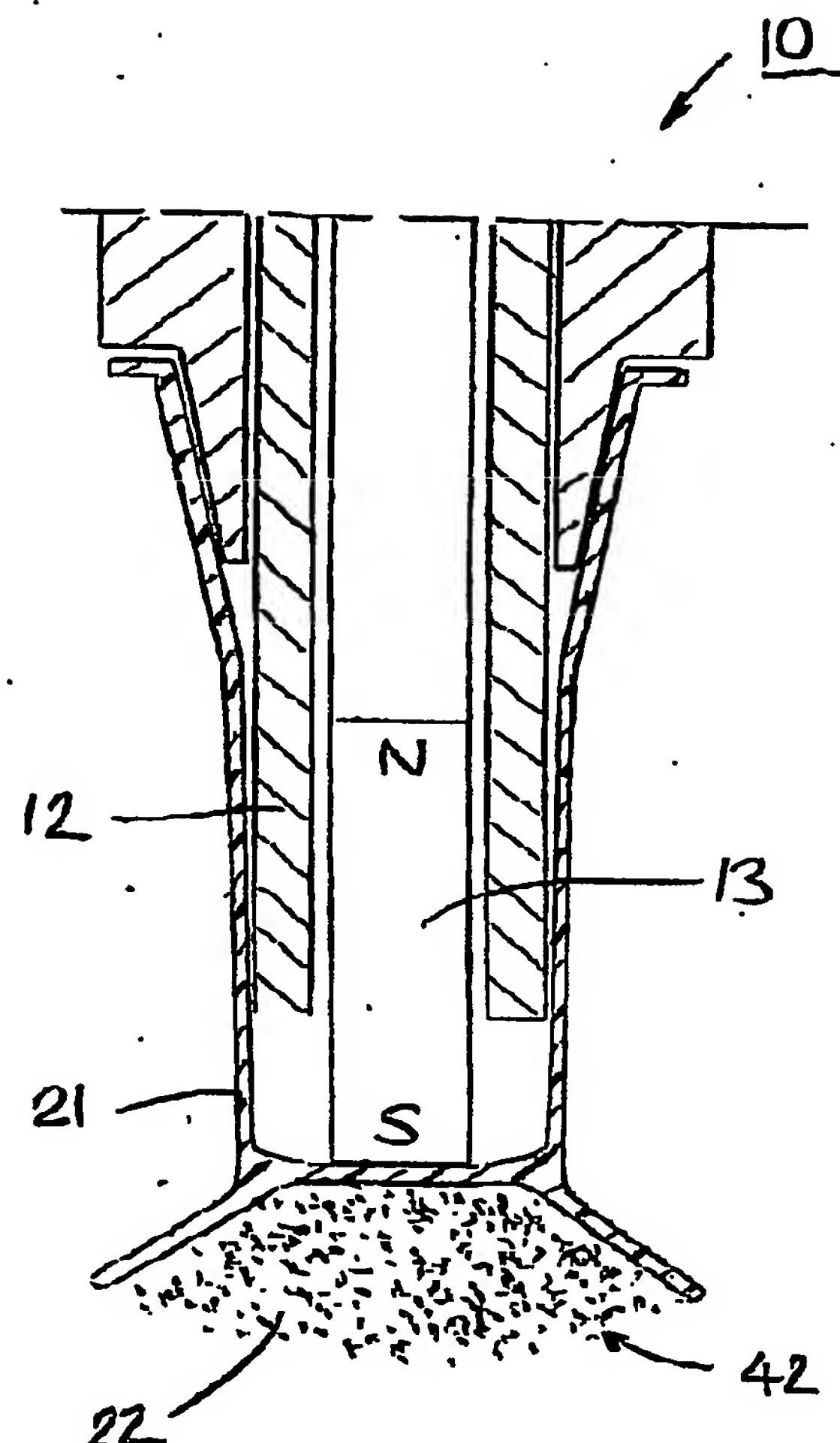


FIG. 27

L2

24

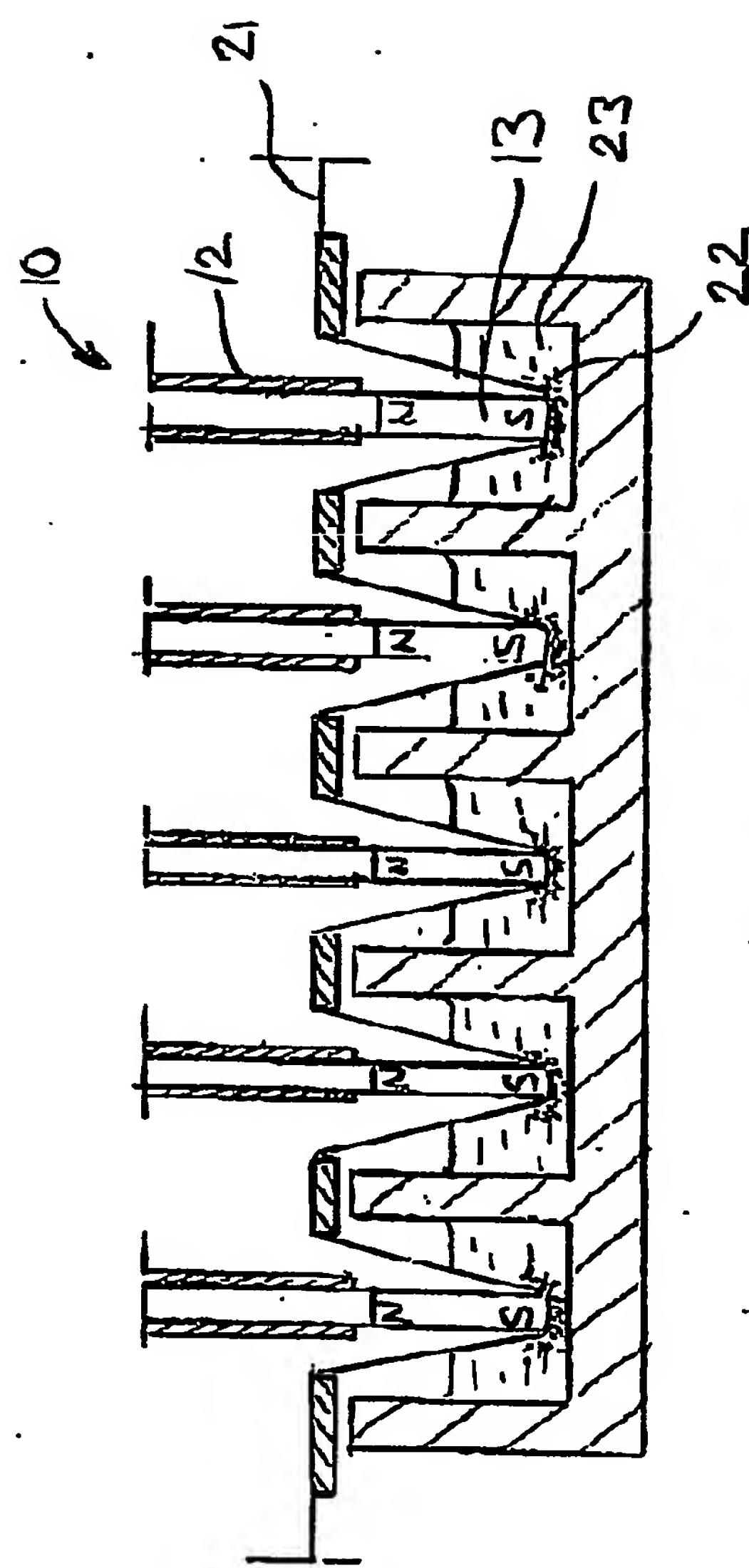


FIG. 28

L 2

25

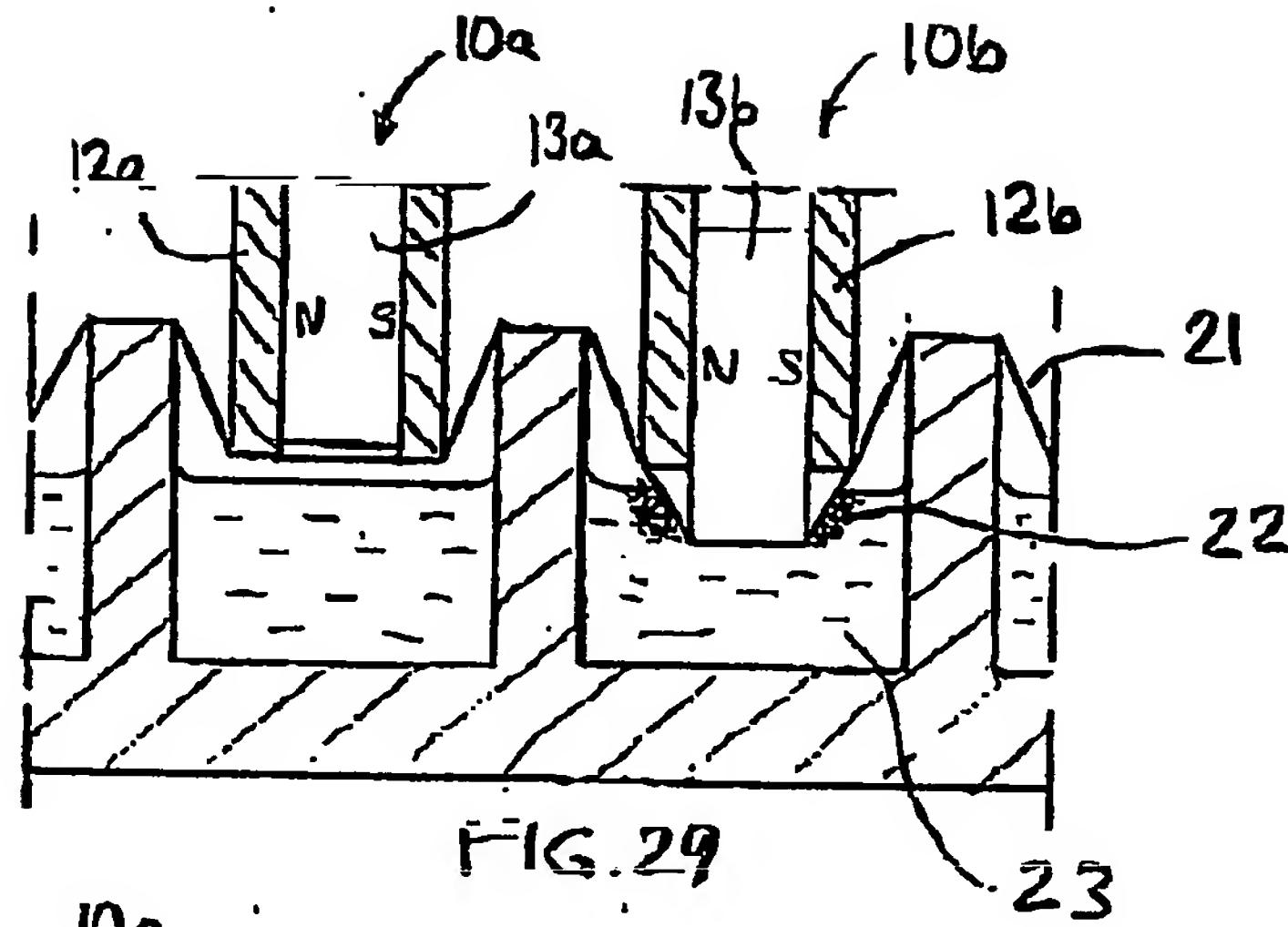


FIG. 29

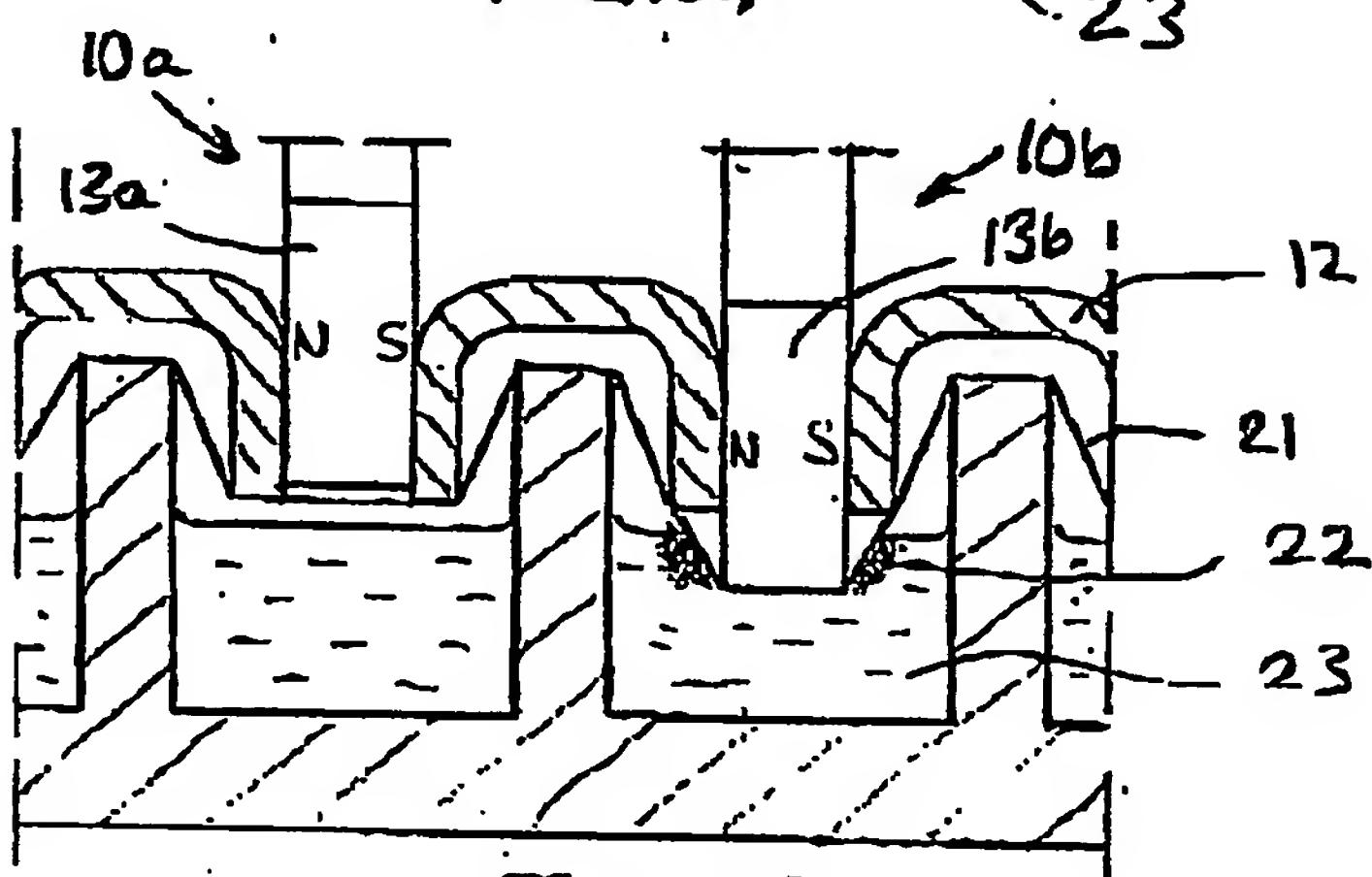


FIG. 30

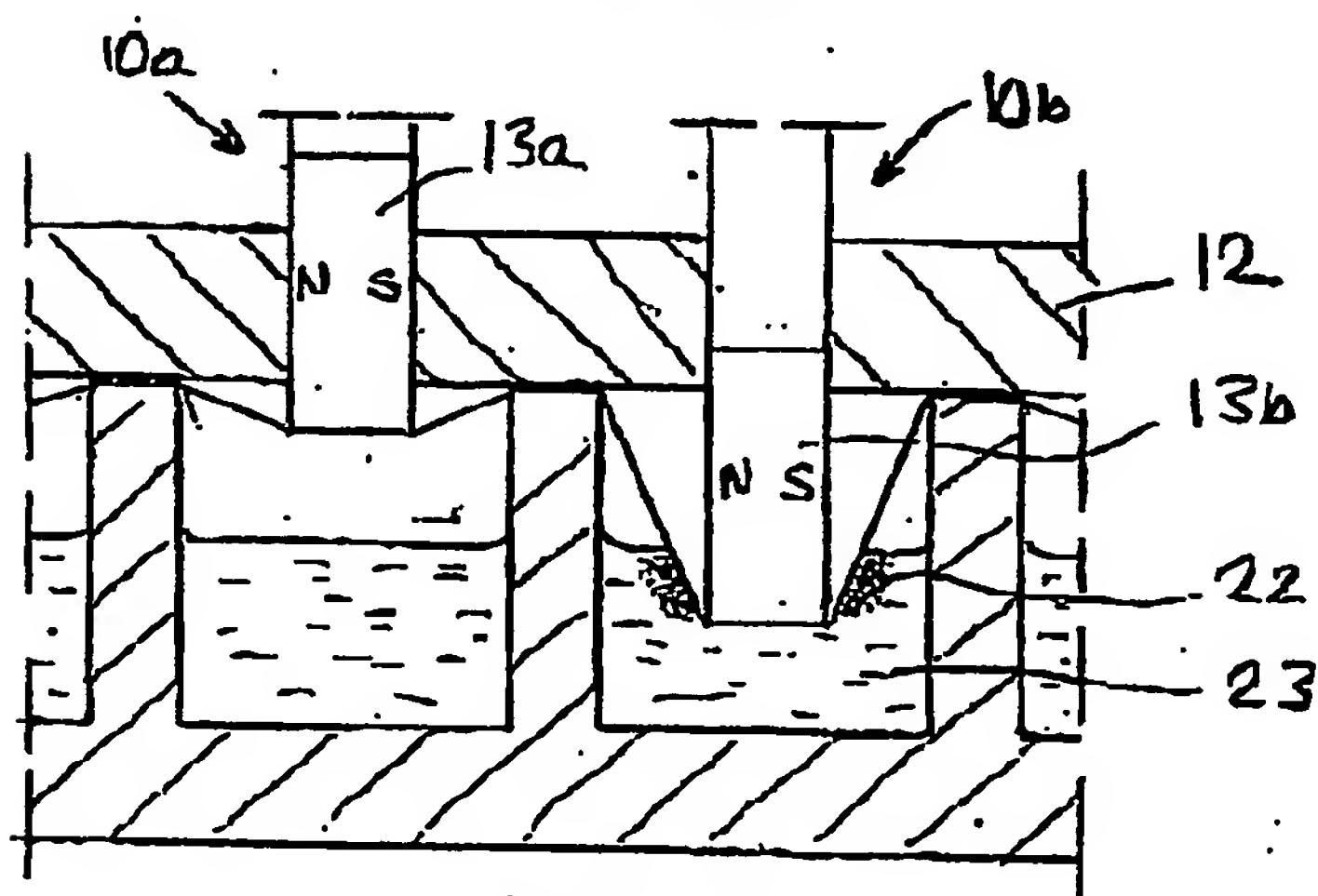


FIG. 31

L 2

26

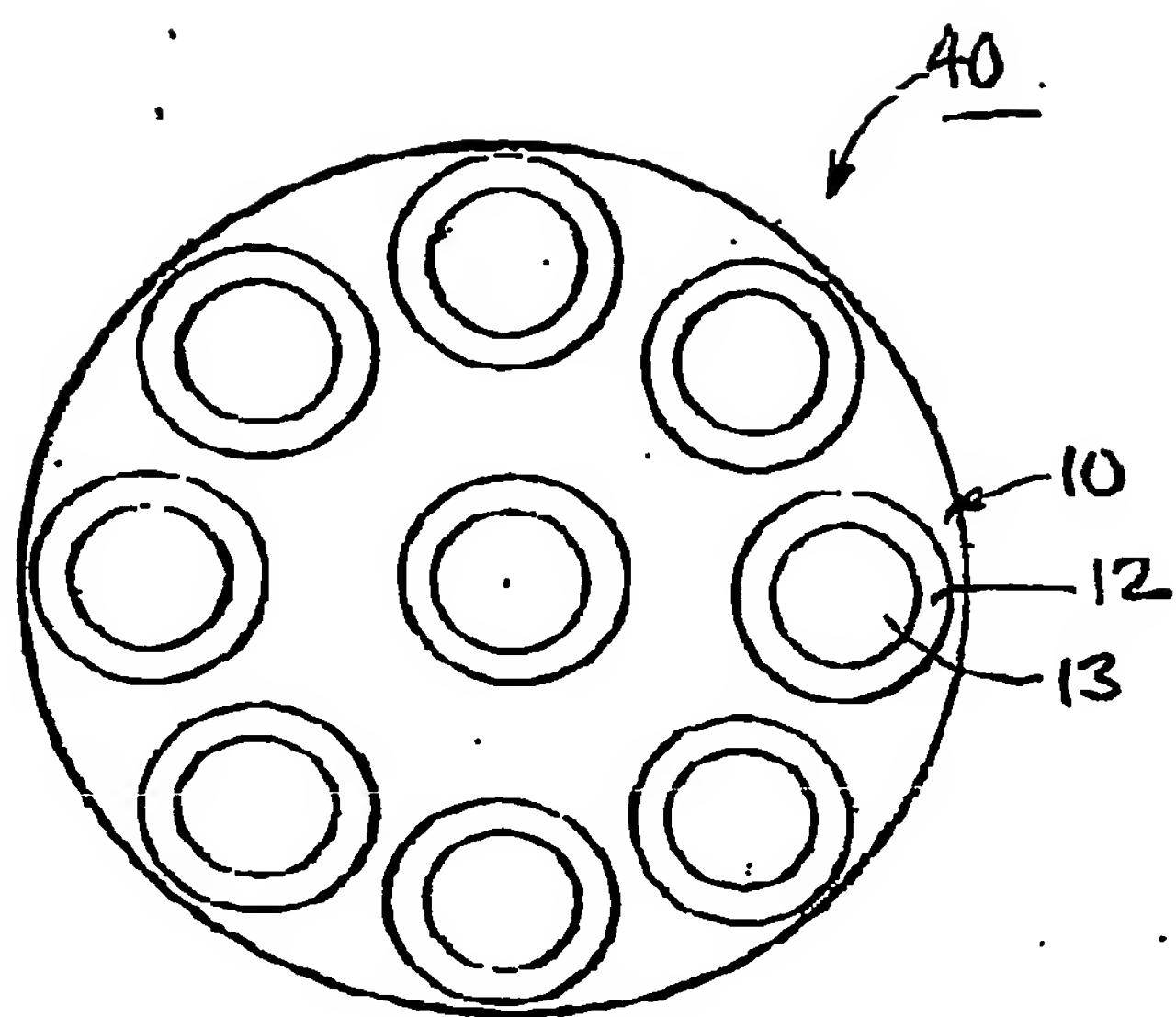
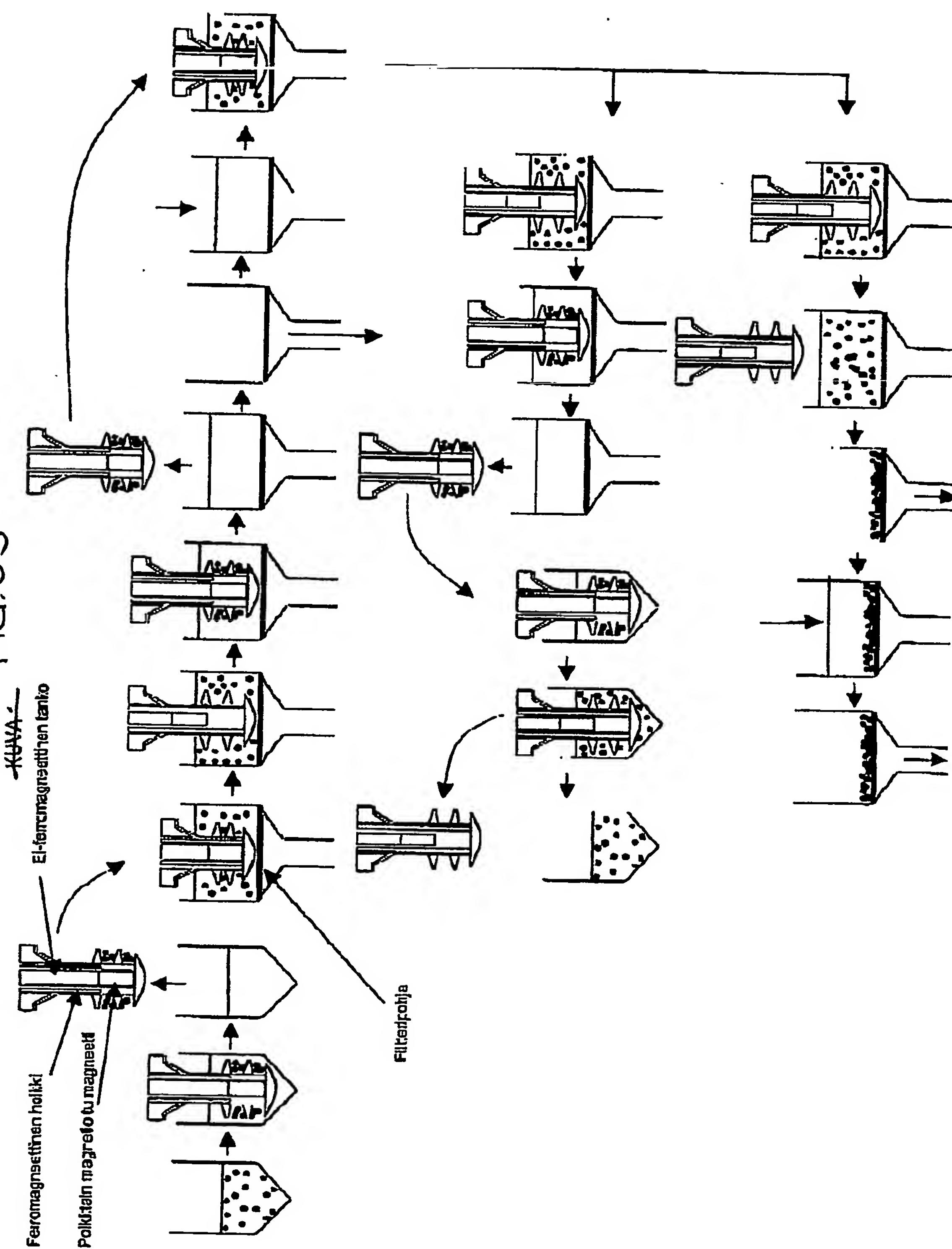


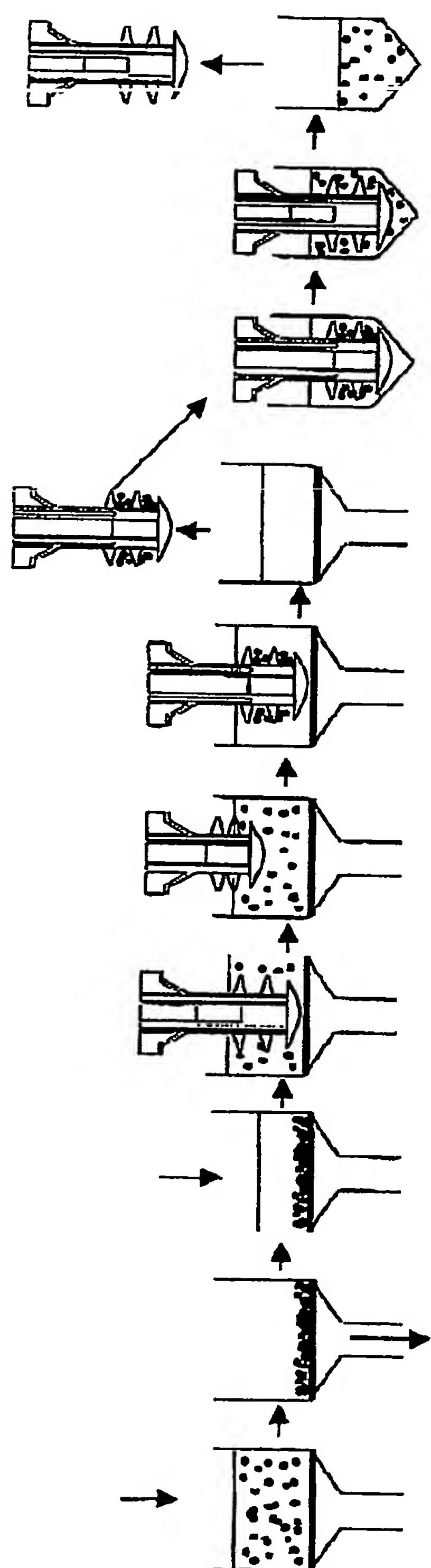
FIG. 32

L 2

27

FIG. 33

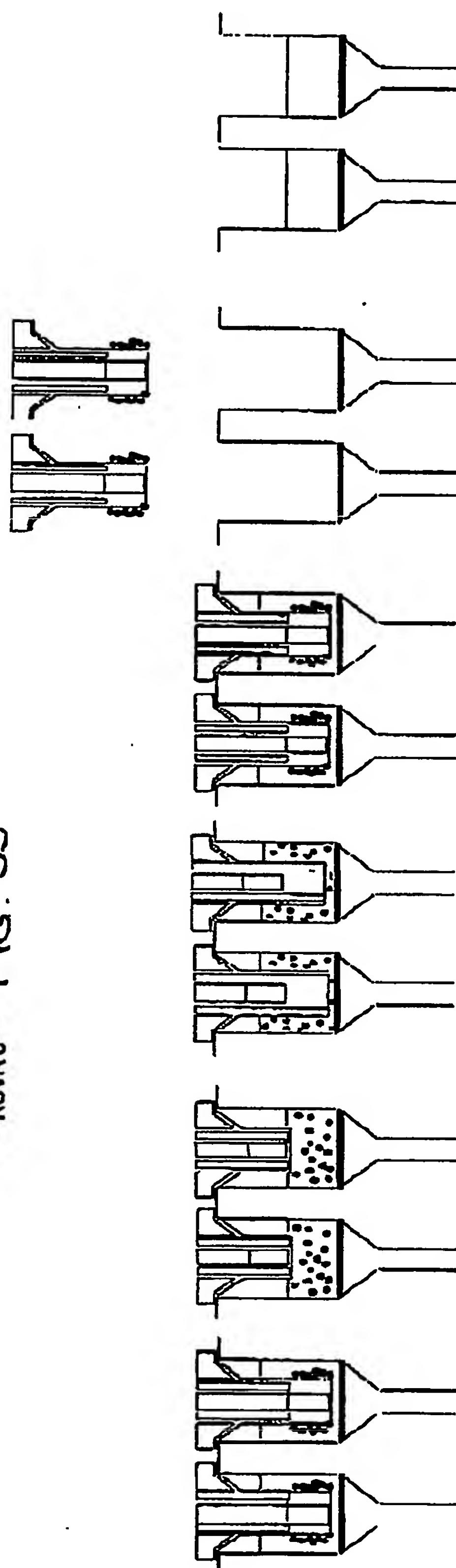




KUMA2 FIG. 34

L 2

29



KUVAT FIG. 35

L2

30

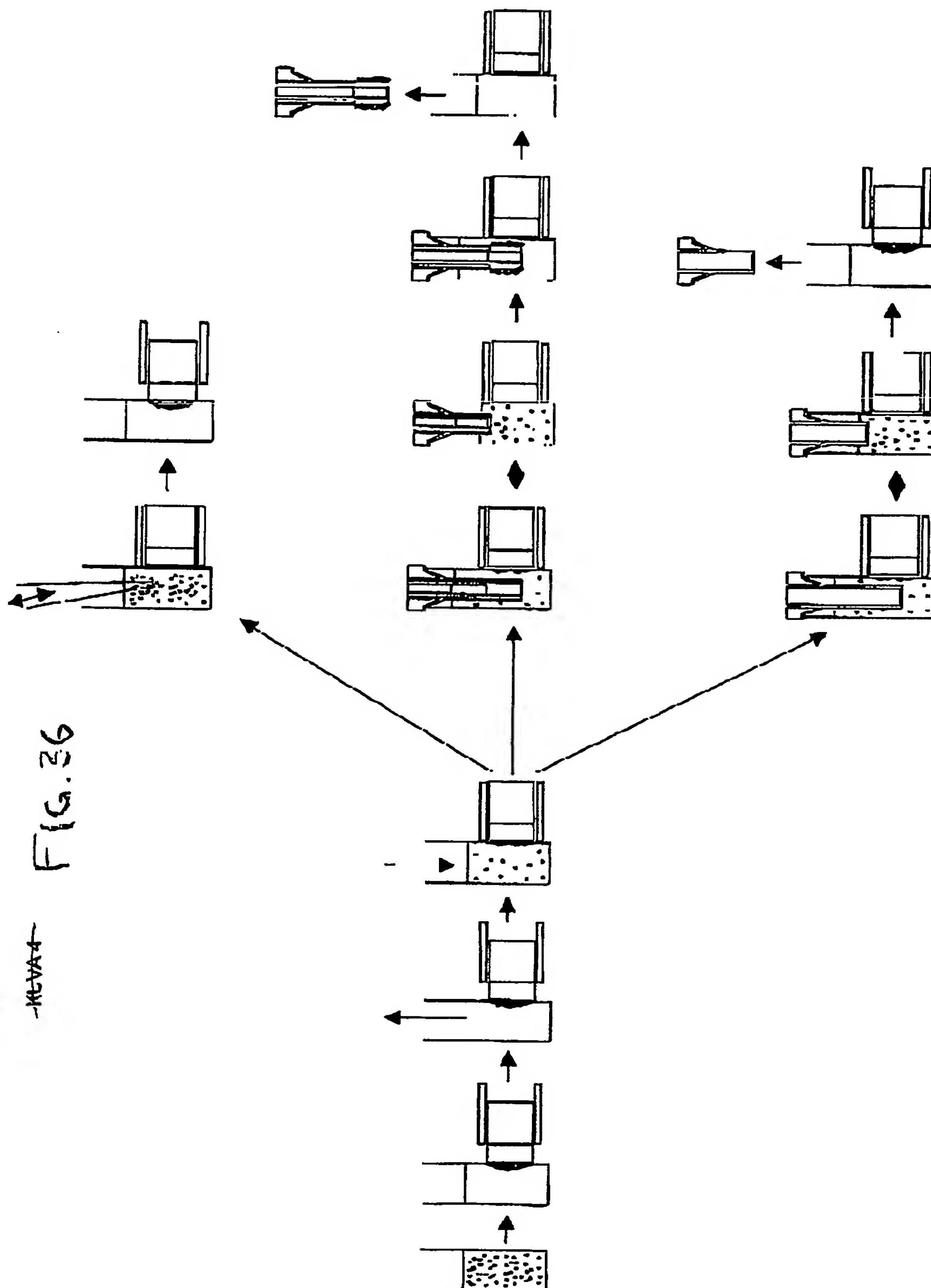
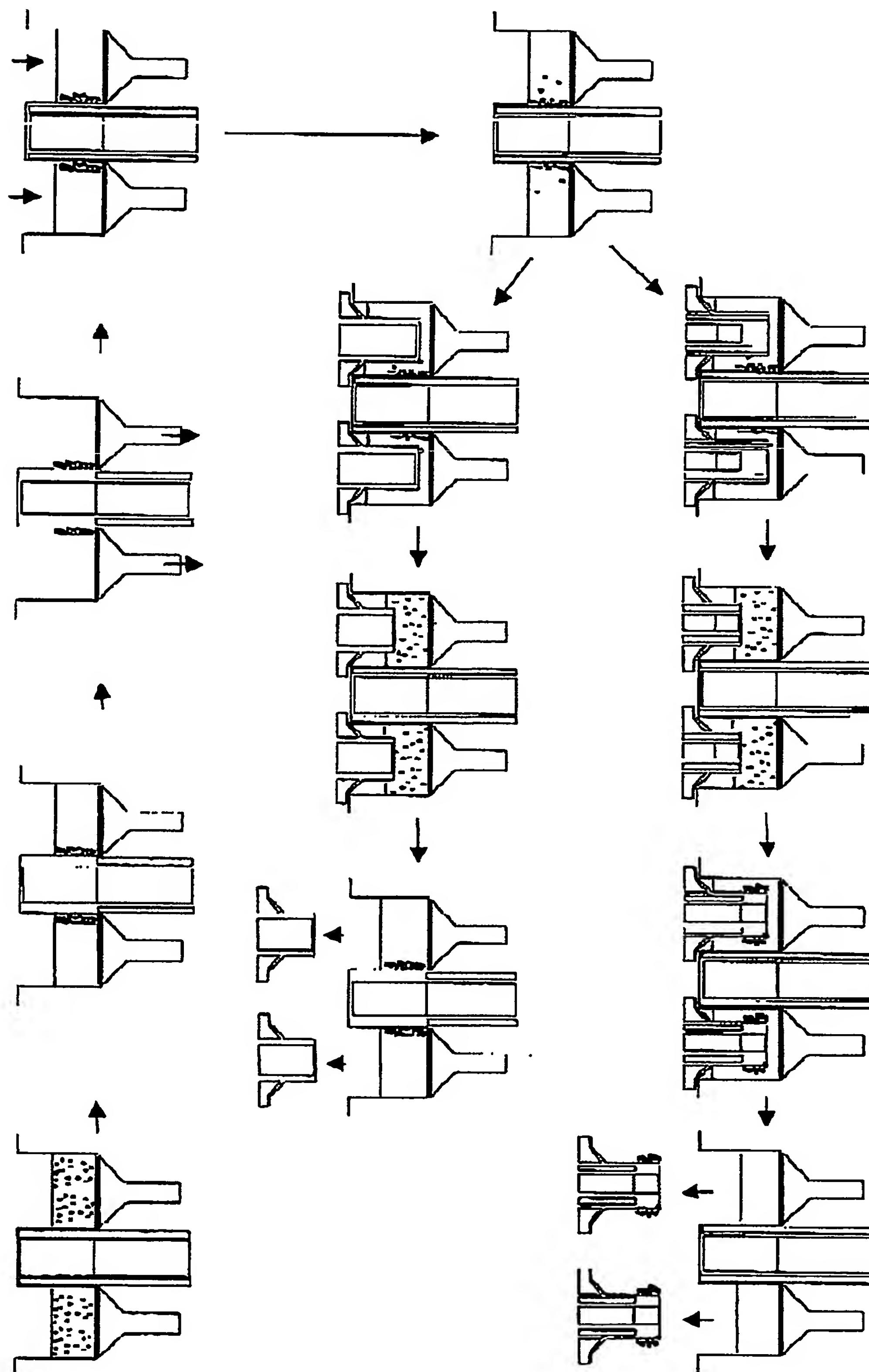


FIG. 26

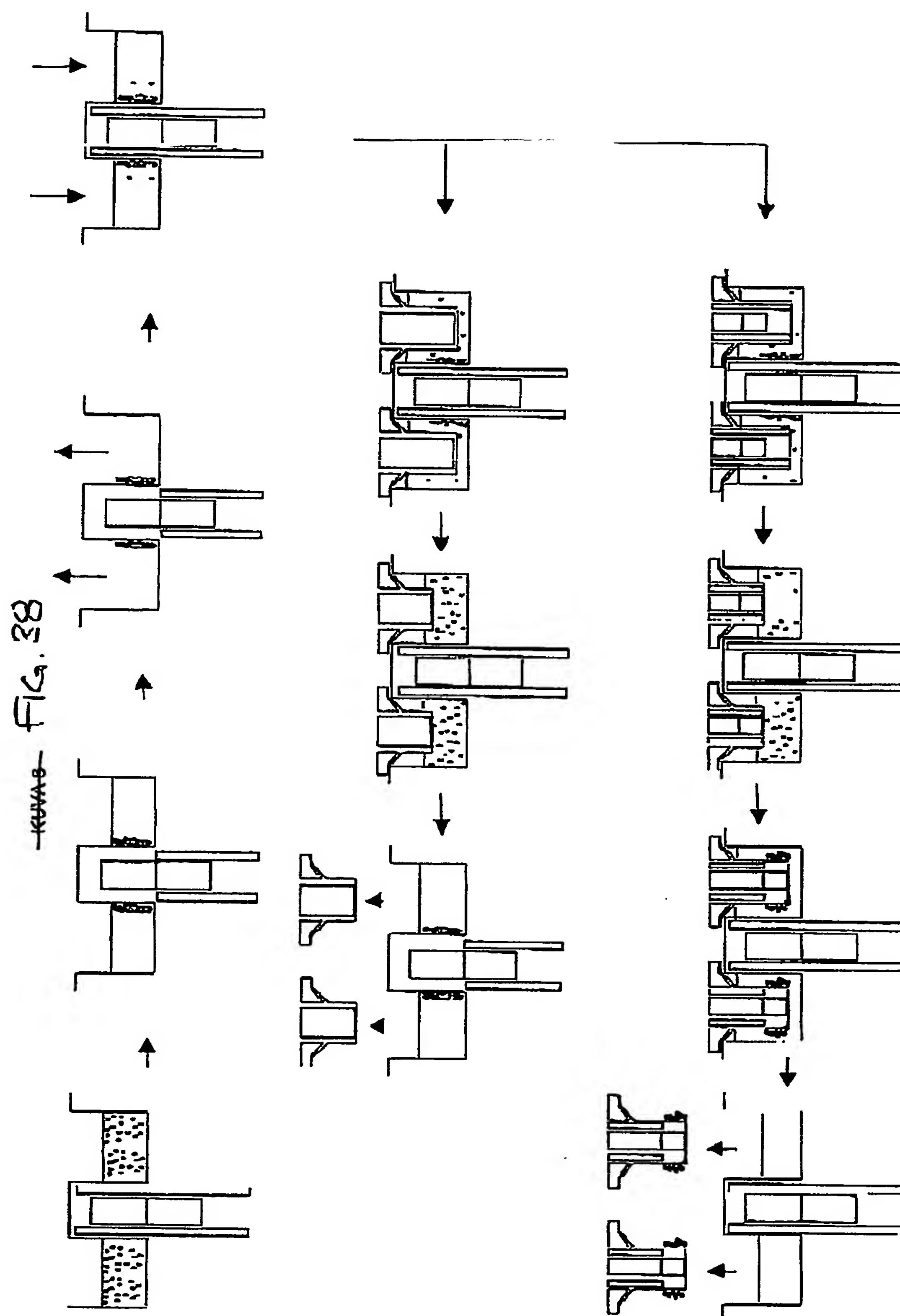
-KUVAT-

Kuva 5 FIG. 37



L 9

33

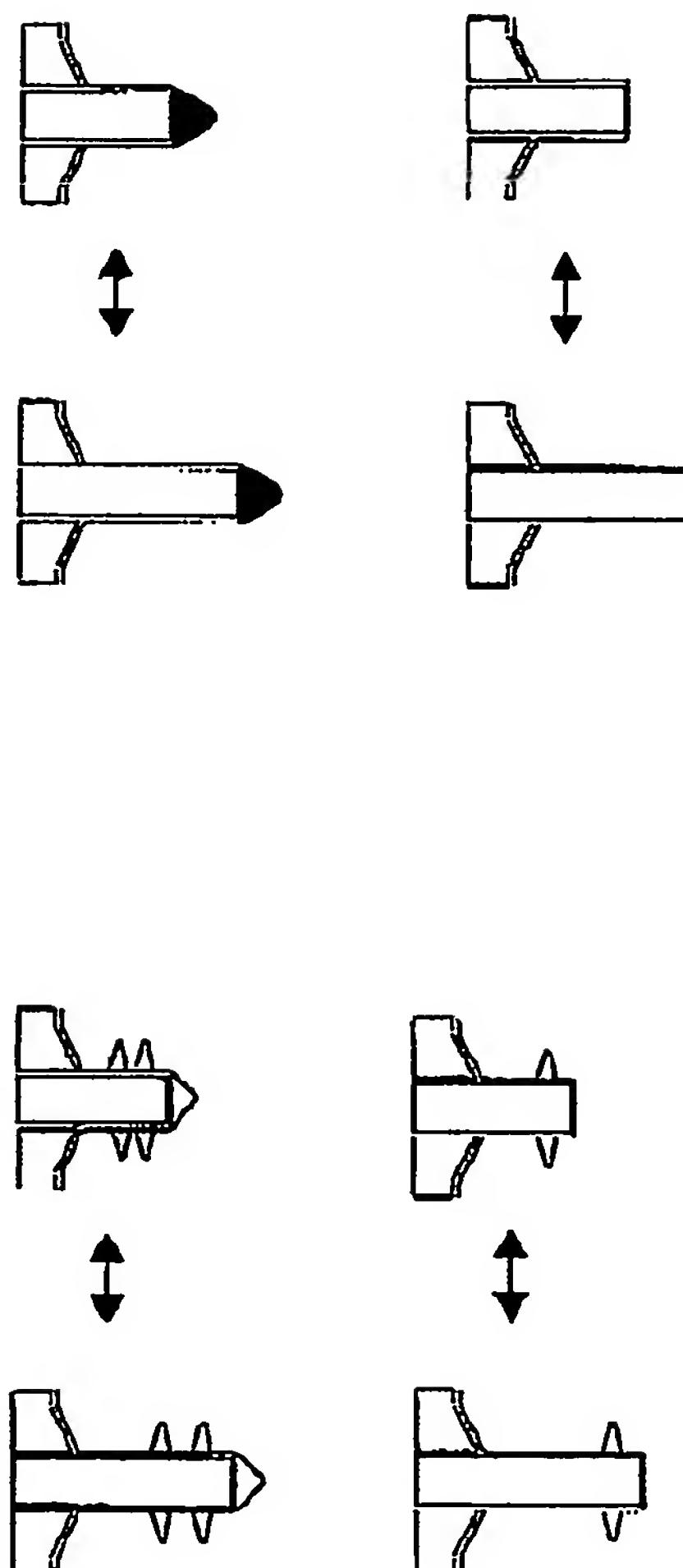
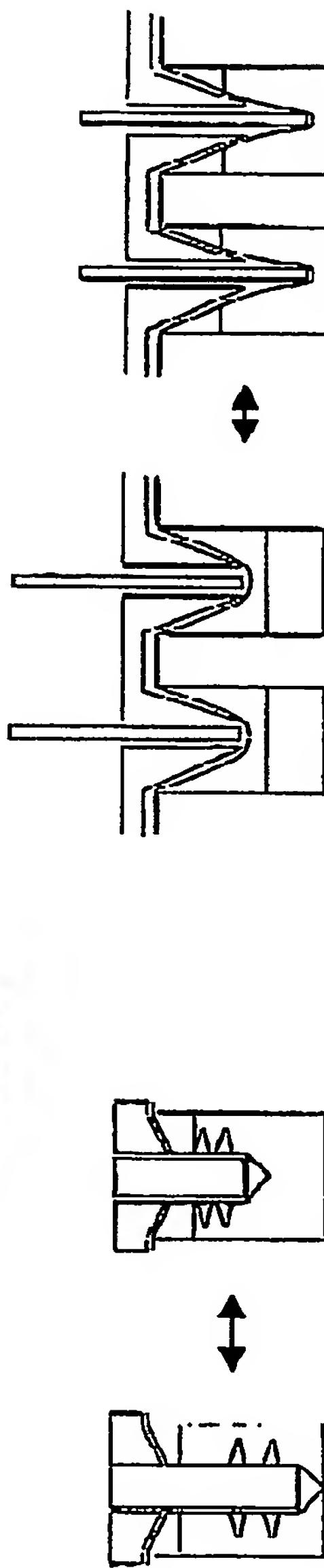


L 2

33

FIG. 29

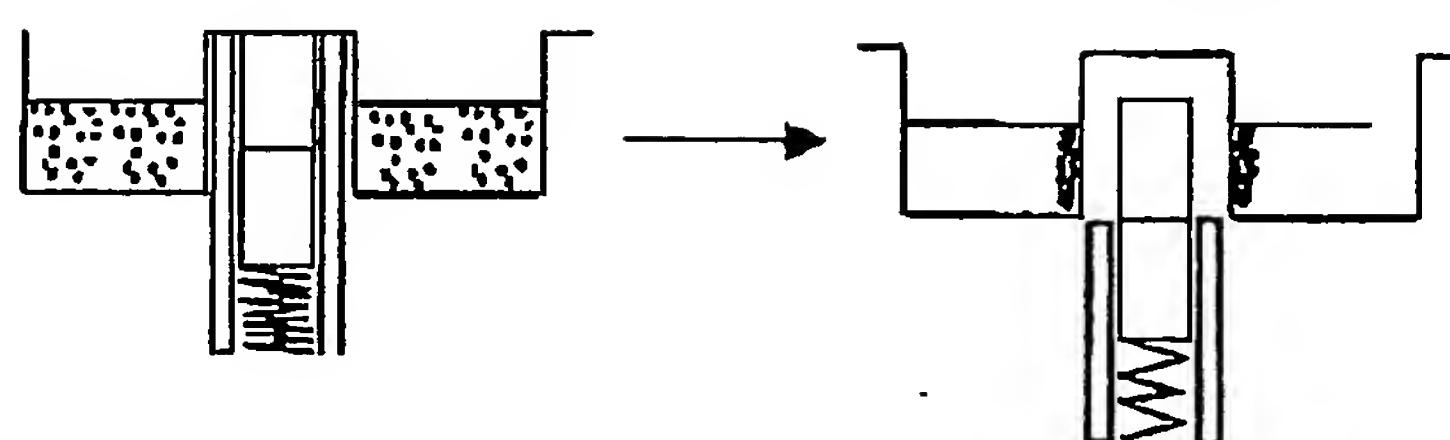
KUVA 7



L 2

34

FIG. 40
KUVA 8

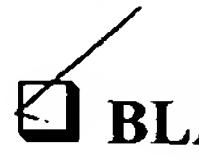


**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:



BLACK BORDERS

- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.